

Aus der Klinik für Vögel und Reptilien
und dem Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Untersuchungen zur Pharmakokinetik und Verträglichkeit von Doxycyclin bei
Brieftauben nach oraler Applikation**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Eva-Maria Weilacher
aus Dachau

Leipzig, 2009

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Arvid Dauschies

Betreuer: Prof. Dr. Maria-Elisabeth Krautwald-Junghanns
Prof. Dr. Fritz Rupert Ungemach

Gutachter: Prof. Dr. Maria-Elisabeth Krautwald-Junghanns,
Klinik für Vögel und Reptilien,
Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

Prof. Dr. Fritz Rupert Ungemach,
Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie,
Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

Prof. Dr. Wolfgang Bäumer,
Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie,
Tierärztliche Hochschule Hannover

Tag der Verteidigung: 29.09.2009

Für meine Schwester Ruth

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Zahlenmäßiges Aufkommen von Brieftauben in Deutschland.....	3
2.2	Ornithose der Brieftaube, Durchseuchungsgrad, Erkrankungsfälle.....	3
2.3	Erreger – Biologie und Folgen für die therapeutische Bekämpfung.....	4
2.4	Bedeutung der Bekämpfung der Ornithose der Brieftauben.....	8
2.4.1	Bedeutung für die Geflügelwirtschaft.....	8
2.4.2	Ornithose als Zoonose.....	8
2.5	Diagnostik und Therapiemaßnahmen in Brieftaubenbeständen, staatliche Regelungen	10
2.6	Neuere Therapieregime in Brieftaubenbeständen.....	12
2.6.1	Enrofloxacin.....	13
2.6.2	Doxycyclin.....	13
2.7	Daten zu Doxycyclin.....	15
2.7.1	Pharmakologie.....	15
2.7.2	Wirkspektrum und minimale Hemmkonzentrationen.....	16
2.7.3	Wirkmechanismus und Anwendungsdauer.....	16
2.7.4	Zugelassene Präparate, Anwendungsgebiete, Applikationsform und Dosierung	17
2.7.5	Pharmakokinetik.....	19
2.7.5.1	Resorptionsrate.....	19
2.7.5.2	Verteilung.....	20
2.7.5.3	Plasmaproteinbindung und Halbwertszeit.....	21
2.7.5.4	Metabolismus und Ausscheidung.....	22
2.7.6	Resistenzsituation von Doxycyclin bei Brieftauben in Deutschland.....	22
2.7.7	Wechselwirkungen.....	23
2.8	Verträglichkeit von Doxycyclin.....	24
2.8.1	Unerwünschte Wirkungen allgemein.....	24
2.8.2	Unerwünschte Wirkungen speziell beim Vogel.....	26
2.9	Studien an Tauben – orale Verabreichung von Doxycyclin.....	27
2.10	Überlegungen zur Trinkwassermedikation bei Brieftauben.....	28
3	Tiere, Material und Methoden	31
3.1	Versuchstiere.....	31
3.2	Untersuchungen zu Plasma- und Gewebespiegeln von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation.....	32
3.2.1	Testpräparat.....	32

3.2.2	Untersuchungen zur Plasmakinetik nach einmaliger oraler Doxycyclinapplikation von 60 mg/kg KM.....	33
3.2.3	Untersuchungen zur Plasmakinetik von Doxycyclin bei 14-tägiger oraler Applikation von 30 mg/kg KM pro Tag.....	33
3.2.4	Untersuchungen zur Ermittlung der Gewebespiegel in Leber und Lunge nach 14-tägiger oraler Applikation von 30 mg/kg KM pro Tag.....	34
3.2.5	Untersuchungen zur Plasmakinetik nach Trinkwasserapplikation von Doxycyclin	34
3.2.5.1	Versuch zur Ermittlung des Trinkwasserverbrauchs.....	35
3.2.5.2	Orientierender Versuch zur Trinkwassermedikation mit 800 mg/l Doxycyclin (über 3 Tage).....	35
3.2.5.3	Versuch zur Trinkwassermedikation mit 750 mg/l Doxycyclin (über 10 Tage).....	35
3.2.6	Probennahme.....	36
3.2.7	Hochdruckflüssigkeitschromatographische Bestimmung von Doxycyclin.....	36
3.2.7.1	Probenaufarbeitungen und Festphasenextraktion für Plasmaproben...	36
3.2.7.2	Probenvorbereitung und Festphasenextraktion für Leber bzw. Lungengewebe.....	37
3.2.7.3	HPLC-Analyse	38
3.2.7.4	Auswertung der Chromatogramme.....	38
3.2.7.5	Validierung der HPLC-Analytik von Doxycyclin.....	39
3.2.8	Pharmakokinetische Auswertung.....	43
3.2.9	Geräte, Materialien, Chemikalien.....	43
3.3	Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation im kontrollierten klinischen Test.....	45
3.3.1	Test-und Kontrollsubstanzen.....	45
3.3.2	Studiendesign.....	45
3.3.3	Randomisierung.....	47
3.3.4	Verblindung.....	47
3.3.5	Entblindung.....	47
3.3.6	Herstellung der Applikationslösung.....	48
3.3.7	Applikation der Doxycyclinlösungen.....	48
3.3.8	Prüfung der Verträglichkeit durch Überwachung des Gesundheitszustandes....	48
3.3.8.1	Bestimmung der Körpermasse.....	49
3.3.8.2	Klinische Untersuchung.....	49
3.3.8.3	Tierärztliche Adspektion.....	49
3.3.8.4	Tägliche Bestimmung des Futtermittelsverbrauches.....	49
3.3.8.5	Tägliche Bestimmung des Trinkwasserverbrauches.....	50

3.3.8.6	Klinisch chemische und hämatologische Blutuntersuchung.....	50
3.3.8.7	Pathologisch-anatomische und -histologische Untersuchung	51
3.3.9	Geräte, Materialien, Chemikalien.....	52
3.4	Tierschutz.....	52
3.5	Statistische Auswertung.....	53
4	Ergebnisse	55
4.1	Ergebnisse zu den Untersuchungen zu Plasma- und Gewebespiegeln von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation.....	55
4.1.1	Plasmakinetik nach einmaliger oraler Doxycyclinapplikation von 60 mg/kg KM. .	55
4.1.2	Plasmakinetik von Doxycyclin bei 14 tägiger oraler Applikation von 30 mg/kg KM pro Tag.....	57
4.1.3	Ermittlung der Gewebespiegel in Leber und Lunge nach 14tägiger oraler Applikation von 30 mg/kg KM pro Tag.....	59
4.1.3.1	Orientierender Versuch zur Trinkwassermedikation mit 800 mg/l Doxycyclin (über 3 Tage).....	60
4.1.3.2	Versuch zur Trinkwassermedikation mit 750 mg/l Doxycyclin (über 10 Tage).....	62
4.2	Ergebnisse zu den Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation im kontrollierten klinischen Test	63
4.2.1	Gesundheitsstatus der Tiere vor Beginn der Untersuchungen.....	63
4.2.2	Tägliche tierärztliche Adspektion während der experimentellen Phase.....	64
4.2.3	Tägliche Bestimmung des Futter- und Trinkwasserverbrauches.....	66
4.2.4	Bestimmung der Körpermasse.....	67
4.2.5	Klinische Untersuchung.....	68
4.2.6	Klinisch chemische Blutuntersuchung.....	70
4.2.7	Hämatologische Untersuchung.....	76
4.2.8	Pathologische Untersuchung.....	81
4.2.8.1	Pathologisch-anatomische Untersuchung.....	81
4.2.8.2	Pathologisch-histologische Untersuchung.....	84
5	Diskussion	87
5.1	Plasmakinetik nach einmaliger oraler Doxycyclinapplikation von 60 mg/kg KM.....	87
5.1.1	Bewertung der Resorption von Doxycyclin aus dem Magen-Darm-Trakt.....	87
5.1.2	Beurteilung der Eliminationsgeschwindigkeit.....	89
5.2	Plasmakinetik von Doxycyclin bei 14-tägiger oraler Applikation von 30 mg/kg KM pro Tag – Aufbau eines konstanten therapeutischen Wirkspiegels zur Ornithosetherapie bei der Brieftaube.....	90
5.3	Ermittlung der Gewebespiegel in Leber und Lunge nach 14-tägiger oraler Applikation –	

Erreichen von therapeutisch wirksamen Spiegeln in den Zielorganen.....	92
5.4 Plasmakinetik nach Trinkwasserapplikation von Doxycyclin.....	93
5.4.1 Orientierender Versuch zur Trinkwassermedikation mit 800 mg/l Doxycyclin (über 3 Tage) - Akzeptanz von doxycyclinhaltigem Trinkwasser und Darreichungsart.	93
5.4.2 Versuch zur Trinkwassermedikation mit 750 mg/l Doxycyclin (über 10 Tage) – Aufbau von konstanten therapeutischen Wirkspiegeln bei selbstgewählter Trinkwasseraufnahme und mögliche Probleme.....	95
5.5 Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation.....	98
5.6 Begründung der Eignung von Doxycyclin zur Behandlung der Chlamydophila psittaci- Infektion der Brieftaube.....	103
6 Zusammenfassung	110
7 Summary	112
8 Literaturverzeichnis	114
9 Anhang	136

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der verschiedenen Stadien des Entwicklungszyklus von <i>Chlamydomonas psittaci</i> ; K = Kern (Quelle: modifiziert aus: EVERETT 2000).....	6
Abbildung 2: Strukturformel von Doxycyclin (Summenformel: $C_{22}H_{24}O_8N_2$).....	15
Abbildung 3: Plasmaprobe Brieftaube, unmittelbar vor der intraingluvialen Doxycyclin-Applikation, versetzt mit dem internen Standard Demeclocyclin (0,8 µg/ml).....	40
Abbildung 4: Kontrollplasma-Probe Brieftaube, aufgestockt mit 0,2 µg/ml Doxycyclin sowie Internem Standard Demeclocyclin (0,8 µg/ml).....	40
Abbildung 5: Kontrollplasma-Probe Brieftaube, aufgestockt mit 2,4 µg/ml Doxycyclin sowie Internem Standard Demeclocyclin (0,8 µg/ml).....	41
Abbildung 6: Plasmaprobe Brieftaube, 2 h nach intraingluvialer Applikation von Doxycyclin in der Dosis 15 mg/kg KM (Doxycyclin-Konzentration 1,9 µg/ml).....	41
Abbildung 7: Repräsentative Kurve für die Kalibrierung der Bestimmung der Doxycyclinkonzentration im Plasma.....	42
Abbildung 8: Plasma-Konzentrations-Zeit-Verlauf (Mittelwerte + Standardabweichung) von Doxycyclin nach einmaliger intraingluvialer Applikation von Doxycyclin-Lösung (Dosis: 60 mg/kg KM) an Brieftauben; n = 3-6 Tauben pro Zeitpunkt.....	55
Abbildung 9: Plasmaspiegel (Mittelwerte + Standardabweichung) von Doxycyclin während 14-tägiger intraingluvialer Doxycyclingabe in der Dosis von 15 mg/kg KM, zweimal täglich; Zeitpunkte für Trough-Werte (1 h vor Applikation): 7 Uhr und 15 Uhr; Zeitpunkte für Peak-Werte (2 h nach Applikation): 10 Uhr und 18 Uhr; n = 8 Tauben pro Zeitpunkt.....	57
Abbildung 10: Plasma-Konzentrations-Zeit-Verlauf (Mittelwerte + Standardabweichung) von Doxycyclin nach 14-tägiger intraingluvialer Applikation von von Doxycyclin-Lösung (Dosis: 15 mg/kg KM, zweimal täglich) an Brieftauben, n = 4 Tauben pro Zeitpunkt.....	58
Abbildung 11: Doxycyclin-Konzentrationen (Mittelwerte + Standardabweichung) in Lunge, Leber und Plasma nach Beendigung einer 14-tägigen oralen (intraingluvialen) Applikation von zweimal täglich 15 mg/kg KM;	59
Abbildung 12: Doxycyclin-Plasmaspiegel (Mittelwerte aus 2 Proben) bei 4 Brieftauben nach Trinkwassersupplementierung mit 800 mg/l (Doxycyclin-Gehalt als Base berechnet).....	60

Abbildung 13: Plasmakonzentrationen von Doxycyclin (Mittelwerte + Standardabweichung) während des 10-tägigen Angebots von Doxycyclin-supplementiertem Trinkwasser in der Konzentration von 750 mg/l; Blutprobenentnahmen am Tag 2, 3, 5, 7 und 9 des Trinkwasserangebots, sowie am Tag nach dem Trinkwasserangebot (Tag 11), zweimal täglich um 8 Uhr und 16 Uhr; n = 9 Tauben pro Zeitpunkt.....	62
Abbildung 14: Tägliche Kot-/Harnveränderungen der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) im Studienverlauf.....	65
Abbildung 15: Beobachtung veränderten Verhaltens (Regurgitieren) der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) im Studienverlauf.....	66
Abbildung 16: Tägliche Futteraufnahme in g der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) im Studienverlauf.....	67
Abbildung 17: Tägliche Wasseraufnahme in ml der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) im Studienverlauf.....	67
Abbildung 18: Körpermasse in g, Signifikanz $p < 0,05$: Körpermasse am Tag 14 der Fünffachdosisgruppe (E) und Kontrollgruppe (A) gegen die Doppeldosisgruppe (D), Körpermasse am Tag 20 und am Versuchsende der Fünffachdosisgruppe (E) gegen die Einfachdosisgruppe (B) Eineinhalbfachdosisgruppe (C) und Doppeldosisgruppe (D).....	68
Abbildung 19: Beobachtete Verhaltensänderungen in der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) in der klinischen Untersuchung am Tag 7, 14 und 20.....	69
Abbildung 20: Beobachtete Kot-/Harnveränderungen in der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) in der klinischen Untersuchung am Tag 7, 14 und 20.....	69
Abbildung 21: Globulin und Albumin in g/l der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) am Tag -6, 10 und 20.....	72
Abbildung 22: ASAT in U/l der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) am Tag -6, 10 und 20.....	73

Abbildung 23: LDH in U/l der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) am Tag -6, 10 und 20.....	74
Abbildung 24: GGT in U/l der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) am Tag -6, 10 und 20.....	75
Abbildung 25: Leukozyten in Mrd./l der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) am Tag -6, 10 und 20.....	78
Abbildung 26: Heterophile in % der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) am Tag -6, 10 und 20.....	79
Abbildung 27: Lymphozyten in % der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) am Tag -6, 10 und 20.....	81
Abbildung 28: Anzahl der Tiere mit Leberveränderungen der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E).....	82
Abbildung 29: Milzgewichte in g (Mittelwerte + Standardabweichung) der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E).....	84

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Wechselwirkungen mit Doxycyclin (Quelle: modifiziert aus: KLEIN und CUNHA 1995)	24
Tabelle 2: Pharmakokinetische Parameter von Doxycyclin nach intraingluvialer Applikation von Doxycyclin-Lösung an Brieftauben in einer Einzeldosis von 60 mg/kg KM.....	56
Tabelle 3: Pharmakokinetische Parameter von Doxycyclin nach letzter intraingluvialer Applikation von Doxycyclin-Lösung an Brieftauben in einer Einzeldosis von 15 mg/kg KM am Ende einer 14-tägigen Behandlungsphase mit 2x 15 mg/kg KM pro Tag – berechnet durch Nicht-Kompartiment-Analyse aus den Mittelwerten von 3 Tieren pro Zeitpunkt.....	58
Tabelle 4: Messung der täglichen freiwilligen Aufnahme von Trinkwasser und von mit Doxycyclin mediziertem Trinkwasser mit und ohne Zitronensäurezusatz über 3 Tage am Beispiel von je vier Brieftauben.....	61
Tabelle 5: PK/PD-Grenzwerte (Quelle: modifiziert aus: WIEDEMANN et al. 2003).....	105
Tabelle 6: PK/PD-Grenzwerte für Doxycyclin bei einer Dosierung von zweimal täglich 15 mg/kg KM peroral im Vergleich mit geforderten PK/PD-Grenzwerten.....	107

1 Einleitung

Im Jahre 1874 beschrieb Jürgensen bei Menschen in Deutschland ein Krankheitsbild, das der später als Papageienkrankheit bezeichneten Infektionskrankheit entsprach (GRATZL und KÖHLER 1968). MORANGE bezeichnete im Jahre 1895 die Krankheit mit dem Namen Psittakose, da ein Zusammenhang mit dem Kontakt mit Papageienvögeln offensichtlich war. In den folgenden Jahren wurde deutlich, dass die Psittaciformes nicht das alleinige Erregerreservoir darstellten. Nachdem auch die Taube als definitive Erregerquelle feststand (COLES 1940), schlug MEYER 1941 den Begriff der Ornithose für Haus- und Wildgeflügel vor. 1948 griff die WHO diesen Vorschlag auf.

1930 gelang den drei amerikanischen Forschern Lillie, Coles und Levinthal unabhängig voneinander der mikroskopische Nachweis des Erregers, heute als *Chlamydophila psittaci* bezeichnet.

Aufgrund der Ende der 20-er, Anfang der 30-er Jahre in Deutschland auftretenden Epidemien kam es 1934 zum Erlass des sogenannten „Psittakosegesetzes“. Im Jahr 1969 erfolgte in der Bundesrepublik Deutschland eine grundlegende Neuorientierung der staatlichen Psittakosebekämpfung (LÜTHGEN 1972). Basierend auf den Forschungsergebnissen von MEYER und EDDIE (1955) und WACHENDÖRFER (1970) wurde 1970 die Chemoprophylaxe und –therapie unter Anwendung von Chlortetracyclin eingeführt (WACHENDÖRFER 1971; 1973). Auf der Basis dieser Arbeiten wurde festgelegt, dass für eine effektive Bekämpfung einer Chlamydieninfektion ein Blutspiegel für Tetracycline von mindestens 1,0 µg pro ml Blut über einen gewissen Zeitraum aufrecht erhalten werden muss. Dieser Wert ist bis heute tierseuchenrechtlich vorgeschrieben (PSITTAKOSE-VERORDNUNG 2005).

Aufgrund der weiten Verbreitung der Chlamydien ist es nicht gelungen, die Erkrankung Psittakose/ Ornithose endgültig zu bekämpfen. Dabei stellen Brieftauben nach wie vor ein bedeutendes Erregerreservoir dar (SCHMEER und BUSCHE 1983). In Brieftaubenbeständen hat die Ornithose durch den Tierkontakt bei nationalen und internationalen Wettflügen eine ubiquitäre Streuung und Ausbreitung erlangt, da beispielsweise beim Transport zu den Auflaßorten in nur einem Kabinenexpress-LKW 5.000 bis 7.000 Brieftauben aus mindestens hundert verschiedenen Beständen in engstem Kontakt transportiert werden.

Zur Prophylaxe und Therapie der Psittakose/ Ornithose hat gegenwärtig die Anwendung des Tetracyclinderivats Doxycyclin eine dominierende Stellung errungen und sich in der Praxis bewährt. Derzeit steht in Deutschland kein zugelassenes und geeignetes veterinärmedizinisches Doxycyclin-Präparat für Ziervögel oder Geflügel zur Verfügung, so dass Präparate aus der Humanmedizin wie Doxycyclin-ratiopharm® SF und DoxyHEXAL® SF Injektionslösung für ihren Einsatz in der Vogelmedizin umgewidmet werden müssen. Diese werden in der Dosierung von 75-100 mg/kg alle 5-7 Tage intramuskulär appliziert.

Während bei Papageienvögeln (Psittaziden) die Einzeltierbehandlung bevorzugt wird, wurden bei anderen Volierenvögeln (Finkenvögeln, Tauben) sowie dem Wirtschaftsgeflügel im Laufe der Jahre für die unterschiedlichen Spezies immer wieder verschiedene Dosierungen, Wirkstoffe und Applikationsformen erprobt. Für die Brieftaube hat sich bisher keine praxisrelevante Therapieform etabliert. In den letzten Jahren zeichnet sich jedoch die Entwicklung ab, anstelle der traditionellen parenteralen Applikation von Chemotherapeutika eine orale Applikation über das Trinkwasser vorzuziehen. Komplizierte Herstellungsverfahren von medikiertem Futter, welches nicht immer optimal angenommen wird, und Nekrosen verursachende Injektionen in die Brustmuskulatur können so umgangen werden. Dieser Aspekt ist insbesondere bei Sporttauben wichtig, welche eine intakte Brustmuskulatur benötigen, um optimale Flugleistung zu erbringen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein oral zu verabreichendes Doxycyclin-Präparat auf seine Pharmakokinetik und Verträglichkeit bei Brieftauben untersucht.

In den pharmakokinetischen Untersuchungen sollte festgestellt werden, welches Dosierungsregime bei oraler Verabreichung ausreichend hohe Wirkstoff-Plasmaspiegel über den gesamten Behandlungszeitraum gewährleistet, damit eine erfolgreiche Behandlung der Ornithose der Brieftauben, entsprechend den in der Verordnung zum Schutz gegen Psittakose und Ornithose gestellten Anforderungen, durchgeführt werden kann. In dieser Verordnung wurde festgelegt, dass eine Konzentration von Doxycyclin $> 1,0 \mu\text{g/ml}$ im Plasma und im Zielgewebe über 25 Tage aufrecht erhalten werden muss, um eine antibakterielle Wirkung gegenüber definierten *Chlamydophila psittaci* zu gewährleisten (PSITTAKOSE-VERORDNUNG 2005).

Desweiteren wurde die Verträglichkeit von Doxycyclinhyclat nach oraler Anwendung über 20 Tage bei Brieftauben in verschiedenen Dosierungen im kontrollierten klinischen Test (Parallelgruppenstudie) getestet. Unverträglichkeiten und Nebenwirkungen bei akzidenteller Überdosierung des Präparates sollten einschätzbar werden, da anhand von vielfältigen Erfahrungen mit einer stark schwankenden Trinkwasseraufnahme unter Einflüssen von Außentemperatur, Freiflug und Krankheit zu rechnen ist.

Damit wurde in der vorliegenden Arbeit der Versuch unternommen, eine praxisrelevante orale Therapieform der Ornithose der Brieftaube zu begründen.

2 Literaturübersicht

2.1 Zahlenmäßiges Aufkommen von Brieftauben in Deutschland

Die Domestikation der Taube, die vor 5000 Jahren im alten Ägypten begann, hat sich bis heute in der Brief- und Rassetaubenzucht erhalten. Die Familie der Tauben (Columbidae) ist mit 60 Gattungen und über 300 Arten über die ganze Welt verbreitet (HOFFMANN 1969).

In Deutschland wird die Brieftaubenzucht von über 80.000 organisierten Züchtern betrieben, weitere 60.000 halten Rassetauben. Dabei beläuft sich die Gesamtpopulation an Brieftauben auf ca. 10 Millionen Tiere, bei einer durchschnittlichen Bestandsgröße von ca. 150 Tieren (Klaus Kühntopp, Leipzig, 27.10.2008).

2.2 Ornithose der Brieftaube, Durchseuchungsgrad, Erkrankungsfälle

Die Ornithose der Brieftauben tritt derzeit aufgrund der guten medizinischen Versorgung, der optimalen Haltungsbedingungen und der Sorgfalt der Züchter nur noch in Ausnahmefällen als seuchenhafte Erkrankung auf (Ludger, Kamphausen, Leipzig, 30.10.2008). Bei der tierärztlichen Betreuung der Brieftaubenbestände hat das Vorkommen des Erregers der Ornithose als einer der wichtigen bakteriellen Infektionserreger bei Brieftauben seit langem eine zentrale Bedeutung (HOOIMEIJER 2006; PENNYCOTT 2008; Ludger, Kamphausen, Leipzig, 30.10.2008).

LÜTHGEN (2006) wies bei 20-40 % der von ihm untersuchten Tauben eine Chlamydieninfektion nach. Im Rahmen einer retrospektiven Analyse diagnostischer Untersuchungsbefunde bei Tauben an der Universität Gießen beschreibt HELMECKE (2007) einen Chlamydiennachweis bei 196 (5,8%) der sezierten Tauben.

Bei der Ornithose handelt es sich um eine Infektionskrankheit, die neben ihrem Vorkommen bei Wild- und Ziervögeln sowie verschiedenen Geflügelarten auch bei Tauben vorkommt und durch das obligat intrazellulär lebende Bakterium *Chlamydophila psittaci* hervorgerufen wird (VANROMPAY et al. 1995a; PENNYCOTT 2008).

Aufgrund der geringen Pathogenität der Taubenserovare verläuft die Ornithose bei adulten Tauben in der Regel latent. Die Tauben zeigen äußerlich keinerlei oder nur geringe Krankheitsanzeichen, sind aber Chlamydienträger und -ausscheider (UNKRIEG 1995; LÜTHGEN 2006). Nestlinge stecken sich meist bald nach dem Schlupf durch die Aufnahme von gekröpftem Futter an (PENNYCOTT 2008). Nicht alle Jungen erkranken und verenden, der größte Teil ist latent infiziert. Solche Tiere entwickeln sich anscheinend normal, scheiden den Erreger aus und übertragen diesen wieder auf ihre Jungen. Durch latent infizierte Tauben kann der Erreger über alle Sekrete und Exkrete, bei Tauben auch über die Kropfmilch, von Generation zu Generation, sowie über Flugwettbewerbe, Ausstellungen und Zwischenträger, durch Kontakt mit Haustauben, verwilderten Haustauben oder Wildvögeln von Bestand zu Bestand übertragen werden (GRIMES 1994;

2.2 Ornithose der Brieftaube, Durchseuchungsgrad, Erkrankungsfälle

ANDERSEN und VANROMPAY 2003). Der Erreger ist hoch infektiös und hat eine große Tenazität in der Umwelt.

So kommt es, dass in Deutschland eine hohe Anzahl der Brieftaubenbestände infiziert sind. Die Erreger können jahrelang in den Beständen persistieren und kontinuierlich oder intermittierend ausgeschieden werden, ohne dass sichtbare Erkrankungen auftreten (PENNYCOTT 2008). Tauben sind häufig chronische Dauerausscheider (LÜTHGEN 2006). Ausscheider können allerdings nach 30-50 Tagen zu temporären „Nichtausscheidern“ werden und dies jahrelang bleiben. Durch immunsupprimierende Situationen, z. B. durch hohe Flugleistung, Sekundärinfektionen mit anderen Erregern oder bei jungen, konstitutions- und konditionsschwachen, stark resistenzgeschwächten Tieren kann es zum plötzlichen Krankheitsausbruch kommen (GERLACH 1999; PENNYCOTT 2008).

Jährlich erkranken in Deutschland ca. 15 % der Brieftauben an Ornithose (HAFEZ 2003). Die Verluste können bei empfindlichen Nestlingen so hoch sein, dass nur etwa 10 bis 20 % der üblicherweise erwarteten Nachzucht überlebt (LÜTHGEN 2006). Wie bereits 1968 durch GRATZL und KÖHLER beschrieben, treten vereinzelt, in Abhängigkeit von der Virulenz des Erregers, des Infektionsdrucks und der Begünstigung durch Umweltfaktoren Enzootien und Epizootien unter Brieftauben auf.

Bei Erkrankung sind das Respirationssystem und der Verdauungstrakt betroffen (KALETA 1997; PENNYCOTT 2008). Die Inkubationszeit schwankt zwischen 3 Tagen und 3 Monaten und ist stark abhängig von der Virulenz und der Wirtsspezifität des Chlamydienstammes. Der Verlauf kann akut, subakut oder chronisch sein. Nestjunge, Jungtiere und immunsupprimierte erwachsene Tauben erkranken meist an Enteritis, der sich oft Konjunktivitis, Rhinitis und Bronchopneumonie anschließen (TUDOR 1991). Bei adulten Brieftauben beobachtet man häufig als einziges Symptom Konjunktivitis (VOGEL et al. 1999, ANDERSEN und VANROMPAY 2003), Keratokonjunktivitis und Nasenausfluss (GERLACH 1999; TULLY 2006). Auch bei dieser „Augenform“ liegt die Mortalitätsrate laut GERLACH (1999) um die 10 % und kann bei ausbleibender Behandlung auf bis zu 100 % ansteigen. Tauben im Endstadium sind teilnahmslos, entkräftet, abgemagert, appetitlos, zittern und verenden nach mehreren Wochen der Erkrankung. Vorübergehende Lahmheiten (FRITZSCHE et al. 1956; BUSCHE 1976) und zentralnervöse Störungen (BUSCHE 1976) konnten beobachtet werden. Genesen die Tiere unbehandelt, bleiben sie symptomlose Träger und Ausscheider des Erregers und stellen somit eine weitere Infektionsquelle für Tauben dar.

2.3 Erreger – Biologie und Folgen für die therapeutische Bekämpfung

Der Erreger der Ornithose der Brieftaube ist *Chlamydophila psittaci*. Es handelt sich um kokkoide, unbewegliche, Gram-negative, obligat intrazelluläre Mikroorganismen, die in ihrem Aufbau gram-

negativen Bakterien ähneln. Je nach Phase des Entwicklungszyklus variiert die Größe zwischen 0,2-1,5 µm.

Die taxonomische Einordnung des Erregers bereitete lange Zeit erhebliche Schwierigkeiten. Die derzeit gültige Einteilung der Ordnung Chlamydiales erfolgte 1999 durch EVERETT et al. auf der Grundlage molekularbiologischer Analysen der 16S rRNA und der 23S rRNA.

Ordnung: Chlamydiales

Familie: Chlamydiaceae

Genus: Chlamydophila gen. nov.

Spezies: Chlamydophila psittaci comb. nov.

Innerhalb der Spezies *Chlamydophila psittaci* werden weiterhin acht Serovare A-F, M56, WC plus E/B mit Hilfe von Serovar-spezifischen monoklonalen Antikörpern unterschieden (ANDERSEN 1991; VANROMPAY et al. 1995b). Serovar B und Serovar E kommen endemisch bei Tauben vor. GEENS et al. (2005) gelang es durch die *ompA*-Sequenzierung, den Genotyp E/B zu identifizieren, der unter anderem von Stadtauben stammt. In Abhängigkeit von der Wirtsspezifität können Tauben aber auch mit anderen Chlamydienstämmen infiziert werden.

Laut ANDERSEN und VANROMPAY (2003) erscheinen die Chlamydienstämme der Tauben, im Gegensatz zu denen der Psittaziden und der Puten, zu den weniger virulenten zu gehören. Die Inkubationszeit ist länger, die Morbidität liegt bei 5-20 % und die Mortalitätsrate ist kleiner als 5 %. Zum Zwecke der Vermehrung und Ausbreitung durchlaufen Chlamydien einen für sie charakteristischen Entwicklungszyklus. Dabei treten sie in zweierlei Erscheinungsformen auf. Extrazellulär liegen die Überlebensformen, die stoffwechselinaktiven, infektiösen Elementarkörperchen vor. Die Retikularkörperchen stellen die intrazelluläre, parasitär vom Stoffwechsel der Wirtszelle abhängige Form dar.

Dies ist insofern von Bedeutung, da die Medikamente, die zur Bekämpfung der Ornithose eingesetzt werden, aufgrund der hohen Tenazität der extrazellulären Überlebensformen am intrazellulären Teil des Entwicklungszyklus eingreifen und somit die Körperzellen des Wirtsorganismus penetrieren müssen.

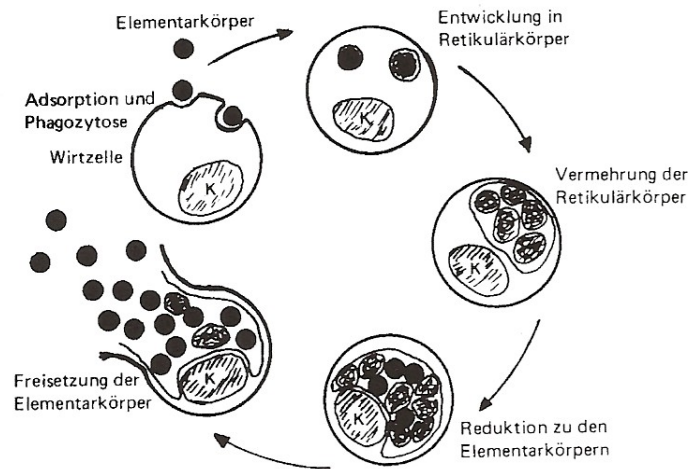


Abbildung 1: Schematische Darstellung der verschiedenen Stadien des Entwicklungszyklus von *Chlamydia psittaci*; K = Kern (Quelle: modifiziert aus: EVERETT 2000)

Der Entwicklungszyklus, dargestellt in Abbildung 1, beginnt, indem die Elementarkörperchen vom Wirt aufgenommen werden und sich rezeptorvermittelt an die respiratorischen Epithelien oder Epithelien des Magen-Darm-Traktes der Taube heften (HACKSTADT 1986). Durch Endozytose gelangen die Elementarkörperchen in das Zytoplasma der Wirtszelle. Hierbei umschließt eine von der Wirtszellmembran stammende Vesikelmembran die Elementarkörperchen (WYRICK und RICHMOND 1989, GERLACH 1993). In dieser Vakuole sind die Erreger vor der Immunantwort der Tauben geschützt. Die Elementarkörperchen entwickeln sich über eine aufgelockerte Form (dispensing form) zu Retikularkörperchen. Hierbei kommt es zu Strukturänderungen der Zellwand und Aktivierung des Stoffwechsels. In ihrem Stoffwechsel sind die Retikularkörperchen auf Substrate der Wirtszelle, wie ATP, GTP, UTP und CTP angewiesen („Energieparasiten“), mit welchen DNA, RNA und Proteine aufgebaut werden (ANDERSEN und VANROMPAY 2003). An dieser Stelle ist es möglich, mit intrazellulär gängigen Chemotherapeutika die Proteinbiosynthese zu blockieren. Die Retikularkörperchen vermehren sich durch Zweiteilung. Nach der Vermehrungsphase befinden sich 100-500 „Nachkommen“ in einer Vakuole, die nun als Einschlusskörperchen bezeichnet wird. Die Chlamydien-Einschlusskörperchen legen sich oft wie ein Kragen um den Zellkern (Chlamydien griechisch = Kragen). Nach der Vermehrungsphase entwickeln sich die Retikularkörperchen über eine kondensierte Form (condensing form) zu Elementarkörperchen. Durch Lyse der Membranen von Wirtszelle und Einschlusskörperchen werden die Elementarkörperchen frei gesetzt und können neue Zellen infizieren. Die Wirtszelle stirbt ab. Es ist noch unklar, ob die Lyse der Membranen durch lysosomale Enzyme der Wirtszelle

oder durch chlamydiale Proteasen ausgelöst wird (MOULDER 1984). Nach ca. 30 Stunden ist der Entwicklungszyklus abgeschlossen (KÖSTERS 1993).

MOULDER (1984) geht davon aus, dass bei einer geringen Vermehrungsrate der Retikularkörperchen die Wirtszelle nicht zugrunde geht, sondern sich weiterhin teilt, und sich dabei die Chlamydien auf die Tochterzellen ausbreiten. Dies ist für MOULDER (1984) die Erklärung für die Entstehung persistenter Infektionen wie sie häufig bei Tauben vorkommen. *Chlamydophila psittaci* existiert dann bei den Vögeln obligat intrazellulär in den Schleimhäuten des Respirationstrakts und nach erfolgter Bakteriämie auch im Epithel des Urogenitaltrakts ohne nachweisbare Vermehrung (KALETA et al. 1998). Diese Erreger können durch Exozytose Antigene aus der Wirtszelle abgeben, welche beim Exozytosevorgang mit einer Wirtsmembran umgeben werden (GERLACH 1999). Die wenig teilungsaktiven, in den Vakuolen der Wirtszellen abgekapselten Retikularkörperchen, sowie die durch Exozytose abgegebenen Antigene werden von den zytotoxischen T-Lymphozyten Klasse I nicht erkannt, es werden keine Antikörper ausgebildet.

Nur bei erkrankten Tauben kommt es zur starken Vermehrung und erneuten generalisierten Ausbreitung des Erregers. Werden Elementarkörperchen aus den Wirtszellen freigesetzt und in großer Zahl von Makrophagen phagozytiert, so wird nach einer Ummantelung mit Opsoninen eine letale lytische Reaktion ausgelöst. Antikörper werden gebildet. Dieser Prozess wird jedoch nicht beim Vorliegen einer geringen Erregerzahl wenig virulenter Stämme initiiert, so dass die Makrophagen zu langlebigen, chronisch infizierten Epitheloidzellen konvertieren. Die Dauer der Antibiotikabehandlung muss die Lebensspanne dieser Epitheloidzellen überschreiten, jedoch ist die genaue Lebensdauer dieser transformierten Zellen bei Vögeln umstritten (GERLACH 1999). GERLACH (1999) beschreibt, dass aktivierte Lymphozyten durch die Produktion von Lymphokinen die Vermehrung der Chlamydien, welche in den Phagosomen vorliegen, hemmen. Mit hoher Wahrscheinlichkeit können die infizierten Makrophagen ihre Einschlüsse während der Mitose im Knochenmark auf Vorläuferzellen übertragen. Das Ergebnis sind Tiere, die lebenslanglich Träger bleiben (GERLACH 1999).

Einen weiteren Erklärungsversuch für das chlamydiale Phänomen der persistenten, klinisch inapparenten Infektion liefern WYRICK und RICHMOND (1989): Gamma-Interferon wird während einer Chlamydien-Infektion vom Wirt gebildet und verursacht einen Tryptophan-Mangel, da es ein Enzym induziert, das Tryptophan katabolisiert, und somit die Ausbreitung der Chlamydien hemmt. Diese Interaktionen zwischen dem Immunsystem der Tauben und dem intrazellulären Parasit gestalten die Diagnostik latenter Chlamydieninfektionen und damit die Entscheidung der Notwendigkeit zur medikamentellen Behandlung unter Umständen schwierig. Sie sind auch dafür

2.3 Erreger – Biologie und Folgen für die therapeutische Bekämpfung

verantwortlich, dass es trotz hoher humoraler Antikörpertiter und erfolgter Antibiotikabehandlung zu Reinfektionen und persistenten Infektionen kommt (WYRICK und RICHMOND 1989).

Die persistierende Erregerausscheidung stellt eine optimale Adaption an den Vogelwirt dar und führt zur ubiquitären Verbreitung und weiten Streuung durch die Brieftauben.

2.4 Bedeutung der Bekämpfung der Ornithose der Brieftauben

2.4.1 Bedeutung für die Geflügelwirtschaft

Die Brieftauben stellen dabei nicht nur eine potentielle Infektionsquelle für andere Tauben, sondern auch für andere Vogelspezies und den Menschen dar. Neben der möglichen Infektion von in Volieren gehaltenen Ziervögeln ist insbesondere der Eintrag von *Chlamydophila psittaci* in Freilandhaltungen von Geflügel von Interesse, wo verschiedenste Serovare erhebliche wirtschaftliche Schäden verursachen können (DUAN et al. 1999; ANDERSEN und VANROMPAY 2003). 14 von 259 Spezies der Hühnervögel werden als Chlamydien-positiv eingestuft (KALETA und TADAY 2003). In der Nutzgeflügelhaltung spielt die Chlamydiose aber vor allem bei Puten, Enten und Gänsen eine große Rolle (ANDERSEN und VANROMPAY 2000). Die Schäden in der Geflügelwirtschaft entstehen aufgrund der geringen Pathogenität der Taubenserovare weniger durch Mortalität, von größerer Bedeutung sind subletale Effekte von Chlamydieninfektionen wie Wachstumsverzögerungen, Gewichtsverluste, verminderte oder ausbleibende Eiproduktion. So liegt bei Enten beispielsweise bei einer Morbiditätsrate von 80 % eine vergleichsweise geringe Mortalitätsrate von 0-30 % vor (BRAND 1989). Bei Puten ist der Aspekt entscheidend, dass neben einer Mortalitätsrate bei weniger virulenten Stämmen von 1-4 % eine um 10-20 % verminderte Eiproduktion auftritt (ANDERSEN und VANROMPAY 2003). Auch beim Wirtschaftsgeflügel ist der Nachweis einer Infektion mit *Chlamydophila psittaci* nach der VERORDNUNG ÜBER DIE MELDEPFLICHTIGEN TIERSEUCHEN (2005) meldepflichtig.

Neben Empfehlungen zur Infektionsprophylaxe seitens der Geflügelbesitzer, wie das Futter möglichst unzugänglich für Tauben zu lagern und den Zugang von Fremdvögeln zu verhindern, obliegt es der Verantwortung der Taubenhalter und der betreuenden Tierärzte, eine Sanierung von infizierten Brieftaubenbestände zu veranlassen.

2.4.2 Ornithose als Zoonose

Von Bedeutung ist auch die Gefährdung der Gesundheit von Personen, die in engem Kontakt mit den infizierten Brieftauben stehen (FLAMMER 2000). Bereits bei Untersuchungen im Jahr 1976 durch FRITZSCHE und HÜRTER konnten bei 36,5 % der Taubenzüchter mit Gesundheitsstörungen, wie Bronchialkatarrh, Asthma, allergische Erscheinungen, Fieber, Kopf-

und Gliederschmerzen, Pneumonie, sowie bei 17,6 % der klinisch gesunden Taubenzüchter erhöhte Chlamydientiter festgestellt werden.

Seit vielen Jahren sind die jährlich gemeldeten Ornithose-Erkrankungen des Menschen mit etwa 300 Fällen relativ konstant (GERBERMANN und JANECEK 1991; KREBSZ 1994, LÜTHGEN 2006). Während Puten, Enten und Papageien die Hauptinfektionsquelle für den Menschen darstellen (WACHENDÖRFER 1969), können nur etwa 8% der menschlichen Ornithosen auf Tauben zurück geführt werden (LÜTHGEN 2006).

Aufgrund der geringen Pathogenität der Tauben-Serovare erkranken Menschen beim Umgang mit Tauben selten. Selbst enger Kontakt zu mehr oder weniger stark infizierten Taubenbeständen führt in der Regel nur zu inapparenten Infektionen (STRAUSS-THEIS 2005). Der durch verwilderte Haustauben verursachte Anteil der Infektionen ist weitaus geringer. So wies bereits BÜRKI 1970 darauf hin, dass beim Menschen lediglich bei massivem Infektionsdruck oder im Zusammenhang mit anderen auslösenden Faktoren, wie einem geschwächten Immunsystem, schwere klinische Erkrankungen auftraten.

Dennoch stellt von den durch Tauben übertragenen Zooanthroponosen die Ornithose eine der wichtigsten dar. Die Übertragung von *Chlamydophila psittaci* auf den Menschen erfolgt durch Einatmen infizierten Staubs (REINWEIN und WALTHER 1960; LÜTHGEN 2006) oder durch Kontakt mit Ausscheidungen infizierter Tiere (LÜTHGEN 2006). Besonders gefährdet sind Personen, die beruflich oder in ihrer Freizeit massiv eregerhaltigen Stäubenausgesetzt sind, wie Personal von Taubenmastfarmen und –schlachthäusern, Volierenbesitzer und Züchter von Zier- und Reisetauben.

Die Chlamydophilose verläuft beim Menschen subklinisch bis perakut fieberhaft mit respiratorischen Symptomen oder als generalisierte Erkrankung. Die Inkubationszeit beträgt 7-21 Tage, kann aber bis zu 3 Monaten dauern. Neben grippeähnlichen Manifestationen und atypischen Pneumonien und Konjunktivitis, treten auch Symptome am Gastrointestinaltrakt, am Herzen (Endo-, Myo-, Perikarditis), Enzephalitis und reaktive Arthritiden auf (PENNYCOTT 2008). In leichten Fällen dauert die Infektion 10-14 Tage, in schweren 3-7 Wochen. Die Übertragung von Mensch zu Mensch ist möglich, aber äußerst selten. Als Sekundärwirt stellt der Mensch nahezu immer das Endglied der Seuchenkette dar (LÜTHGEN 2006). Bei rechtzeitiger Diagnose und Behandlung ist die Erkrankung relativ leicht therapierbar. Standardtherapie beim Menschen ist eine dreiwöchige Doxycyclin-Behandlung. Die Letalität beträgt aufgrund der Diagnostik- und Therapiemöglichkeiten weniger als 0,5 % (SALISCH et al. 1996; LÜTHGEN 2006). Nach § 7 des INFektionsschutzgesetzes (2001) ist der Nachweis einer akuten Infektion mit *Chlamydophila psittaci* namentlich meldepflichtig.

2.4 Bedeutung der Bekämpfung der Ornithose der Brieftauben

Flankierend zu den medikamentösen therapeutischen Maßnahmen und zur Prävention von Infektionen gefährdeter Personen ist eine Sanierung von infizierten Taubenbeständen unabdingbar.

2.5 Diagnostik und Therapiemaßnahmen in Brieftaubenbeständen, staatliche Regelungen

Die Diagnose Ornithose kann durch den direkten Erregernachweis gestellt werden. Am lebenden Tier werden dafür üblicherweise Kot- oder Dreifachtupferproben von Konjunktiven, Rachen und Kloake entnommen. Bei verstorbenen Tauben kann der Nachweis durch Untersuchung von Organproben, insbesondere von Milz, Leber, Konjunktiven oder Luftsäcken erfolgen. Derzeit gängige Methoden des direkten Erregernachweises bei Tauben sind Antigen-ELISA (geringe Sensitivität), PCR (sensitiv) und die Direktfärbung von Ausstrichen (Stamp, Gimnez, Macchiavello, Immunofluoreszenz) (effektiv bei hoher Erregerdichte). Möglich ist auch die Anzüchtung in Zellkulturen. Bei erkrankten Tauben bereitet der Nachweis in der Regel keine Probleme, denn sie scheiden massenhaft Erreger aus. Bei subklinisch erkrankten Tieren und asymptomatischen Trägern können jedoch Phasen ohne und mit Erregerausscheidung einander abwechseln (GERBERMANN et al. 1992; JANECEK 1989). Falschnegative Testergebnisse liegen vor, wenn im Probenmaterial für ELISA-Tests weniger als 600 Elementarkörperchen enthalten (GERLACH 1999) oder die Chlamydien durch unsachgemäßen Transport vor der Anzüchtung bereits abgestorben waren (JANECEK 1989). Falsch positive ELISA-Testergebnisse entstehen durch Kreuzreaktionen mit anderen Bakterien.

Die Diagnostik durch indirekten Erregernachweis in serologischen Untersuchungen (KBR; AK-ELISA) liefert einen ähnlich großen Interpretationsspielraum. Durch die weite Verbreitung des Erregers hatten viele Tauben bereits zu *Chlamydophila psittaci* Kontakt und weisen einen Antikörpertiter auf. Deshalb sind in der Regel nur Serumpaare, die in der akuten Phase und in der Konvaleszenz entnommen werden und einen 4-fachen Titeranstieg zeigen, aussagekräftig. Bei Bestanduntersuchungen mit KBR gilt ein Titer von 1:64 als positiv. Bei einer geringen Anzahl von Tauben kann es vorkommen, dass trotz einer Infektion mit *Chlamydophila psittaci* keine Antikörper ausgebildet wurden. Bei akut erkrankten Tieren handelt es sich dabei entweder um eine kürzlich erfolgte oder eine bereits abklingende Infektion. Untersuchungen bei latent an Ornithose erkrankten Tauben zeigen (LÜTHGEN 1971), dass obwohl die serologischen Untersuchungen negativ verliefen, Chlamydien zum Teil aus dem Nasensekret, der Tränenflüssigkeit und dem Kot nachweisbar waren (vergleiche Kapitel 2.3). Andererseits können serologisch positiv reagierende Tiere frei von Chlamydien sein (LÜTHGEN 2006).

Bei intermittierender Erregerausscheidung schließt ein negatives serologisches Testergebnis und ein negativer Antigen-Nachweis das Vorliegen einer Chlamydieninfektion nicht vollständig aus. Es gibt keinen Test, noch Kombinationen von Tests die eine Erregerfreiheit garantieren können (FLAMMER 2000).

Eine Kombination von Tests bzw. wiederholte Tests lassen mit größerer Wahrscheinlichkeit die Aussage zu, ob Tiere Chlamydienträger sind oder nicht (KALETA 1997; TULLY 2006).

Behandelt werden Tauben, die nachweislich mit oder ohne klinische Symptomatik Chlamydien ausscheiden und mit ihnen alle Vögel desselben Bestandes. Bei lediglich seropositiven Tieren sollte durch weitere Untersuchungen wie Blutbild, blutchemische Untersuchungen, wiederholte Tests die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer Infektion eingegrenzt werden. Seronegative Bestände ohne nachgewiesene Erregerausscheidung sind trotz des bestehenden Restrisikos einer Infektion nicht zu behandeln.

Durch Medikamenteneinsatz ist eine vollständige Elimination der Chlamydien bei Brieftauben möglich, aber nicht sicher (vergleiche Kapitel 2.3). Dennoch reduziert die Behandlung den Infektionsdruck für die Umwelt und minimiert dadurch das Risiko der Streuung der Infektion. Therapeutische Maßnahmen bei Tauben gegen Ornithose sind nur bei Einhaltung besonderer hygienischer Voraussetzungen und unter Verwendung eines geeigneten Arzneimittels wirksam. Zur Verhütung von Reinfektionen müssen während der medikamentellen Behandlung zwingend erregerrhaltiger Kot und kontaminierte Federteilchen und Stäube durch Reinigung und Desinfektion entfernt werden.

Ob und wann im Interesse einer wirksamen Seuchenbekämpfung die Tötung des betreffenden Bestandes oder einzelner Tiere sinnvoll erscheint, ist im Einzelfall in Abhängigkeit von der Größe des Bestandes, der Zahl der erkrankten Tiere, den menschlichen Erkrankungsfällen und den örtlichen Voraussetzungen für die Behandlung zu entscheiden.

Nach der VERORDNUNG ÜBER MELDEPFLICHTIGE TIERSEUCHEN (2005) ist die Ornithose eine meldepflichtige Erkrankung. Tierseuchenrechtlich wird das Vorgehen bei Ornithose in der VERORDNUNG ÜBER MELDEPFLICHTIGE TIERSEUCHEN (2005) und in der PSITTAKOSE-VERORDNUNG (2005) geregelt. Nach § 12 der PSITTAKOSE-VERORDNUNG kann der Amtstierarzt bei Feststellung der Ornithose bei Tauben die Anwendung der Maßregeln dieser Verordnung anordnen.

Generell sollten immer die gesetzlich vorgeschriebenen Bekämpfungsmaßnahmen Anwendung finden.

Nach den AUSFÜHRUNGSHINWEISEN ZUR PSITTAKOSE-VERORDNUNG (1987) ist für die Behandlung von Tauben eine orale Applikation von Chlortetracyclin (CTC) empfohlen. Der zur Therapie der Ornithose benötigte Blutspiegel von Tetracyclinen ist hier gesetzlich festgelegt. Dort

2.5 Diagnostik und Therapiemaßnahmen in Brieftaubenbeständen, staatliche Regelungen

heißt es, dass im Behandlungszeitraum Chlortetracyclin (CTC)-Blutkonzentrationen erreicht werden müssen, die im rechnerischen Durchschnitt über 1 µg CTC/ml Blut betragen.

Es sind 100 mg CTC/kg Körpergewicht (möglich sind auch Dosierungen von 50-80 mg CTC/kg Körpergewicht) pro Tag über 25 Tage zu verabreichen. Dabei hat sich bei Tauben sowohl die Anwendung im Trinkwasser, als auch die Verabreichung des Arzneimittels mit pelletiertem Futter (5 mg CTC /gFutter) als geeignet erwiesen.

In der Praxis muss jedoch in relativ aufwendigen Verfahren medikiertes Futter mit genügender Palatabilität hergestellt werden (POWERS et al. 2000). Die erforderliche CTC-Dosis muss mit der aufgenommenen Menge und dem benötigten Energiegehalt korrelieren, potentielle Interaktion mit anderen Futterbestandteilen (maximaler Calciumgehalt 0,7 %) müssen berücksichtigt werden (FLAMMER 1997, POWERS et al. 2000). Das medikierte Futter unterscheidet sich in Optik, Sensorik und Zusammensetzung gegenüber der üblichen Ration und erfordert eine Umgewöhnung kranker, gestresster Tauben. Kranke Vögel sind unter Umständen inappetent und verweigern das medikierte Futter (POWERS et al. 2000; FLAMMER et al. 2001).

Infolge des bitteren Geschmacks von Chlortetracyclin ist auch die Akzeptanz von medikiertem Trinkwasser nur mäßig (FLAMMER 1989), so dass oft erst nach einem Zeitraum von 10 Tagen ausreichend hohe Blutspiegel aufgebaut werden. Die individuellen Schwankungen in der Trinkwasseraufnahme werden in den AUSFÜHRUNGSHINWEISEN ZUR PSITTAKOSE-VERORDNUNG (1987) insofern berücksichtigt, als dass zur Kontrolle einer sachgemäßen Behandlung Blutproben frühestens 10 Tage nach Behandlungsbeginn zu entnehmen und auf ihren CTC-Gehalt zu untersuchen sind.

Zur Zeit befindet sich kein für Brieftauben zugelassenes Chlortetracyclin-Präparat im Handel (www.vetidata.de). Es besteht die Möglichkeit, für Geflügel und Hühner zugelassene Präparate umzuwidmen. Laut DORRESTEIN (1986) sollte Chlortetracyclin bevorzugt über medikiertes Futter oder Trinkwasser verabreicht werden, da aufgrund der kurzen Halbwertszeit (3-4 h bei Tauben) eine direkte orale oder parenterale Gabe nicht geeignet erscheint.

Chlortetracyclin wird renal eliminiert und sollte bei eingeschränkter Nierenfunktion nicht angewendet werden. Weitere Nebenwirkungen sind Störungen der Darmflora und Gewichtsverluste (JAKOBY und GYLSTORFF 1983; WACHENDÖRFER 1983).

2.6 Neuere Therapieregime in Brieftaubenbeständen

Die AUSFÜHRUNGSHINWEISE ZUR PSITTAKOSE-VERORDNUNG (1987) schreiben nicht den ausschließlichen Einsatz von Chlortetracyclin zur Ornithosetherapie bei Brieftauben vor. Es ist lediglich festgelegt, dass ein entsprechend der Spezies geeignetes Arzneimittel zu verwenden sei.

Verschiedene Antibiotika (Tetracycline, Makrolide, Fluorchinolone und Chloramphenicol) zeigten *in vitro* Wirksamkeit gegen Chlamydien, aber nur Tetracycline und Enrofloxacin wurden *in vivo* erfolgreich eingesetzt (FLAMMER 1997; FLAMMER 2000; GERLACH 1999).

In neueren Behandlungsregimen hat sich Enrofloxacin und Doxycyclin bewährt.

2.6.1 Enrofloxacin

Das auf veterinärmedizinischem Sektor vielseitig eingesetzte Fluorchinolon Enrofloxacin erwies sich in der Behandlung aviärer Chlamydieninfektionen als wirksam (LINDENSTRUTH 1992) und setzt sich in der Praxis zunehmend für die Therapie der klinisch manifesten Ornithose bei Brieftauben durch. Enrofloxacin-haltiges Trinkwasser wird deutlich besser angenommen als das mit Chlortetracyclin medizierte (Ludger, Kamphausen, Leipzig, 04.04.2003). Auch die aufgrund der bakteriziden Wirkung von Enrofloxacin verkürzte Behandlungsdauer wird als Vorteil angeführt.

Während die minimale Hemmkonzentration bei 0,125 mg/l liegt, liegt die minimale bakterizide Konzentration wesentlich höher bei 50-75 mg/l. Ein Blutspiegel von 0,5-1,0 mg/l scheint bei einem Behandlungszeitraum von 14 Tagen effektiv zu sein (JUNG 1992; LINDENSTRUTH 1992). Therapeutische Konzentrationen werden bei ein- bis zweimal täglicher Gabe von 5 mg/kg oder 100-200 mg/l Trinkwasser erreicht (DORRESTEIN 1988).

Tauben sind die einzige Vogelspezies, bei der bei Langzeitbehandlung mit Enrofloxacin bisher Nebenwirkungen beobachtet wurden, wie eine verminderte Schlupfrate und Wachstumsstörungen bei Nestlingen behandelter Elterntiere (KRAUTWALD et al. 1990). *In vitro* konnte für Enrofloxacin eine gute Wirksamkeit nachgewiesen werden, aber die Untersuchungen wurden im Gegensatz zu denen bei Tetracyclinen an einer vergleichsweise geringen Zahl von Chlamydienstämmen durchgeführt. Enrofloxacin sollte zur Therapie von *Chlamydophila psittaci* ausschließlich im Fall einer klinisch manifesten Ornithose verwendet werden. Nur im akuten Krankheitsstadium befinden sich die Erreger in der Vermehrungsphase und können gezielt von Fluorchinolonen erreicht werden. In klinischen Studien erwies sich immer Doxycyclin als effizientesten (FLAMMER 1997).

2.6.2 Doxycyclin

Doxycyclin ist wie Chlortetracyclin ein zur Gruppe der Tetracycline gehöriges Antibiotikum. Es wird in den AUSFÜHRUNGSHINWEISEN ZUR PSITTAKOSE-VERORDNUNG (1987) ebenfalls zur Therapie der Chlamydieninfektion empfohlen und gilt heute aufgrund der ausgezeichneten Wirksamkeit und der Vorteile gegenüber anderen Tetracyclinen als Chemotherapeutikum der Wahl (FLAMMER 1997; EDISON 2002; www.ashp.org).

2.6 Neuere Therapieregime in Brieftaubenbeständen

Doxycyclin zählt zu den neueren Tetracyclinderivaten (SHAW und RUBIN 1986; SAVIN und HOUIN 1988), die im Vergleich zu früheren etwa 10fach lipophiler sind (WEILACHER 1981). Der Vorteil liegt in der verbesserten Resorption nach oraler Applikation und einer besseren Körperverteilung. Die höhere Fettlöslichkeit bewirkt eine bessere Gewebepenetration, wodurch intrazelluläre Mikroorganismen wie Chlamydien effektiv erreicht und bekämpft werden können, bei längerer Halbwertszeit und somit verbesserter antibakterieller Aktivität (BARZA et al. 1975; BARZA und SCHIEFE 1977). Zudem hat es geringere Nebenwirkungen auf die gastrointestinale Flora (CHAMBERS 2005).

Doxycyclin wurde 1962 von Schach von Wittenau vorgestellt (SCHACH VON WITTENAU und YEARY 1963) und 1967 in Deutschland in die Praxis eingeführt (FRIMMER und LÄMMLER 1977; FORTH et al. 1987). 1967 brachte die Firma Pfizer das erste Doxycyclinpräparat unter dem Namen Vibramycin® auf den Markt.

Derzeit gibt es in Deutschland kein für Ziervögel oder Geflügel zugelassenes und geeignetes veterinärmedizinisches Doxycyclin-Präparat, so dass für den Einsatz in der Vogelmedizin Präparate aus der Humanmedizin wie Doxycyclin-ratiopharm® SF und DoxyHEXAL® SF Injektionslösung umgewidmet werden müssen.

Der Anwendung dieser Präparate hat sich zur intramuskulären Applikation in einer Dosis von 75-100 mg/kg KM alle 5-7 Tage für Brieftauben bewährt, jedoch kann das große Injektionsvolumen zu Irritationen und Muskelnekrosen führen (DORRESTEIN et al. 1986a; FLAMMER 2006). Dies ist insbesondere bei Sporttauben von Bedeutung, da sie eine intakte Brustmuskulatur benötigen, um optimale Flugleistung zu erbringen. Das Präparat ist relativ teuer und somit für die Behandlung großer Bestände nur bedingt geeignet (LÜTHGEN 2006).

Seit einigen Jahren zeichnete sich die Entwicklung ab, eine Applikation von Doxycyclin über das Trinkwasser vorzuziehen. Während für andere Vogelspezies, wie Psittaziden und Wirtschaftsgeflügel in Studien bereits orale Behandlungsregime entwickelt wurden (FLAMMER 1987 (Nymphensittiche/ Amazonen/ Aras, oral); POWERS und FLAMMER 1997 (Nymphensittiche, Trinkwasser); FLAMMER 2000 (Nymphensittiche/ Amazonen/ Graupapageien, Trinkwasser); FLAMMER et al. 2001 (Graupapageien/ Kakadus/ Amazonen, Trinkwasser); DIAZ-FIGUEROA et al. 2006 (Nymphensittiche oral); DRUMEV et al. 1982 (Puten, Trinkwasser); SANTOS et al. 1996 (Puten, oral); SANTOS et al. 1997 (Puten, Trinkwasser); LACZAY et al. 2001 (Broiler, Trinkwasser)), liegen bei Brieftauben vergleichsweise wenig pharmakokinetische Daten und Angaben zur Verträglichkeit nach oraler Applikation vor.

2.7 Daten zu Doxycyclin

2.7.1 Pharmakologie

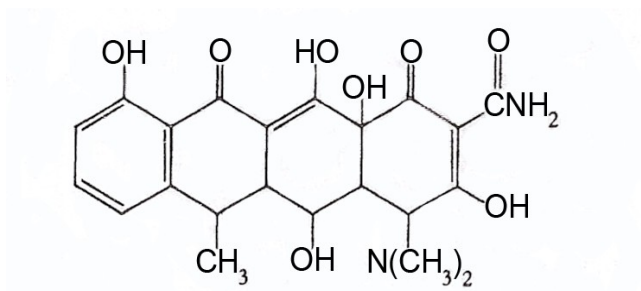


Abbildung 2: Strukturformel von Doxycyclin (Summenformel: $C_{22}H_{24}O_8N_2$)

(Quelle: modifiziert aus: RIVIERE und SPOO 2001)

Doxycyclin ist ein halbsynthetisches Tetracyclinderivat und wird aus Oxytetra- oder Methacyclin hergestellt. Die Strukturformel ist in Abbildung 2 dargestellt. Chemisch handelt es sich um ein alpha-6-Deoxy-5-Oxytetracyclin (RIVIERE und SPOO 2001; IQBAL und RIKIHISA 1994). Wie alle Tetracycline besitzt es als chemische Grundstruktur ein Naphtacen-Ringsystem und unterscheidet sich von Oxytetracyclin, indem an Ringposition 6 eine Hydroxylgruppe fehlt (STEIGBIGEL et al. 1968). Es hat ein Molekulargewicht von 462,46 (RIVIERE und SPOO 2001).

Doxycyclin ist eine gelbe, kristalline, hygroskopische, geruchlose und leicht bittere Substanz (HUBER 1988). Unter UV-Licht fluoresziert Doxycyclin (RIOND und RIVIERE 1988). Es ist in kristalliner Form stabil, wird jedoch unter feuchter Lagerung, hohen Temperaturen und unter Lichteinwirkung zu Epianhydro- oder Anhydroprodukten abgebaut. Es bildet mit 2- und 3-wertigen Kationen Chelate, was für die Pharmakokinetik bedeutsam ist.

Doxycyclin ist stark lipophil und somit schlecht wasserlöslich. Gleichzeitig ist Doxycyclin in wässriger Lösung weniger stabil (KROKER et al. 2002).

Wie alle Tetracycline ist Doxycyclin amphoter und bildet aufgrund saurer Hydroxy- und basischer Dimethylgruppen sowohl mit Säuren als auch mit Basen lösliche Salze. In sauren Lösungen ist es stabiler als Oxytetracyclin und andere Tetracycline, in alkalischen Lösungen entspricht die Stabilität der von Oxytetracyclin (WINKLER und WEIH 1967). Das Wirkungsoptimum liegt bei pH 6,1 bis 6,6 (LÜTHGEN 1983).

Für die medizinische Applikation werden in der Regel Hydrochlorid-Salze verwendet. Die Lösungen der medizinisch verwendeten Hydrochloride sind zum Teil wenig stabil, so dass Stabilisatoren (z.B. Magnesiumsalze) zugesetzt werden müssen (FÜSSLE und WILLEMS 2007).

2.7.2 Wirkspektrum und minimale Hemmkonzentrationen

Doxycyclin wirkt auch gegen zahlreiche andere grampositive und gramnegative Bakterien, einschließlich Anaerobier und Sporenbildner. In hohen Dosen hat Doxycyclin auch einen inhibitorischen Effekt auf einige Protozoenarten (HUBER 1988; STAHLMANN und LODE 2001). Doxycyclin ist aufgrund seiner ausgeprägten Gewebegängigkeit klinisch besonders relevant für die Bekämpfung intrazellulärer Erreger wie Mykoplasmen, Rickettsien und Chlamydien (TEICHMANN 1976; KROKER 2006). Das breite Wirkungsspektrum hat den Vorteil, dass neben einer effektiven und gezielten Bekämpfung des Ornithoseerregers, die häufig gleichzeitig vorliegenden Sekundärinfektionen mitbehandelt werden können (FLAMMER 1997).

Bei Untersuchungen an 14 verschiedenen *Chlamydophila psittaci* Stämmen wurde für Doxycyclin in vitro eine minimale Hemmkonzentration zwischen 0,05 – 0,2 µg/ml ermittelt (BUTAYE et al. 1997). HENNING und KRAUS (1986) und SANTOS et al. (1997) geben Zahlenwerte von 0,01 - 0,08 µg/ml an. 0,2 mg/ml hemmten vollständig die Produktion von Elementarkörperchen in Zellkulturen.

Für den therapeutisch sinnvollen Einsatz sollen nach den AUSFÜHRUNGSHINWEISEN DER PSITTAKOSE-VERORDNUNG (1987) im Behandlungszeitraum Blutkonzentrationen erreicht werden, die im rechnerischen Durchschnitt über 1 µg Doxycyclin/ ml Blut liegen. Es hat sich jedoch gezeigt, dass keine direkte Korrelation zwischen der therapeutischen Effektivität und der Höhe des Blutspiegels der Tetracycline besteht. In Abhängigkeit von der Virulenz des Erregers und dem Immunstatus des Wirts erwiesen sich auch subtherapeutische Blutspiegel als effektiv (ZEH 1976), in manchen Fällen konnte aber auch bei vollständig erreichten Blutspiegeln die Infektion nicht beseitigt werden (GYLSTROFF et al. 1984). Folglich muss im Gesamtzusammenhang beurteilt werden, ob der anzustrebende Blutspiegel von > 1 µg/ml mit einer erfolgreichen Therapie gleich gesetzt werden kann.

2.7.3 Wirkmechanismus und Anwendungsdauer

In therapeutischen Dosen wirkt Doxycyclin bei *Chlamydophila psittaci* bakteriostatisch (STEIGBIGEL et al. 1968, WILLIAMSON 1968; RIOND und RIVIERE 1988). Bei einer außerhalb des therapeutischen Bereichs liegenden Steigerung der Dosis um das 15- bis 300-fache ist ein bakterizider Effekt erreichbar (LASKIN und LAST 1971).

Der Wirkmechanismus beruht primär auf einer Hemmung der Proteinsynthese der Erreger. Das Chemotherapeutikum penetriert die Bakterienzelle mittels eines biphasischen Transportmechanismus: Nachdem Doxycyclin durch die Bakterienwand hindurch in das Periplasma diffundiert ist, wird es aktiv unter Benutzung des Oxalacetat-Transportsystems ins Zellinnere aufgenommen (HENNING 1985; CHAMBERS 2005). Dort bindet es an die ribosomale

30-S-Untereinheit und hemmt dadurch die bakterielle Proteinsynthese in der Elongationsphase, indem es die Bindung der Aminoacyl-t-RNA an diesen Akzeptorstellen unmöglich macht und somit die Peptidkettenverlängerung verhindert wird (KROKER et al. 2002). Die Bindung von Doxycyclin an die Ribosomen ist reversibel (ARONSON 1980; SHAW und RUBIN 1986; STAHLMANN und LODE 2005).

Doxycyclin kann auch an die ribosomale 50-S-Untereinheit binden (RIVIERE UND SPOO 2001; PLUMB 2008) und mit anderen ribosomalen Stellungen Bindungen eingehen, die allerdings schwächer und somit weniger von Bedeutung sind.

Die Affinität zu den 80-S-Ribosomen bei Eukaryonten ist gering (KROKER et al. 2002).

Die Fähigkeit von Doxycyclin, wie alle Tetracycline mit polyvalenten Kationen Chelatverbindungen zu bilden, trägt zur bakteriostatischen Wirkung bei (ALBERT 1956; STAHLMANN und LODE 2005). Eine weitere antibakterielle Wirkung beruht auf der Fähigkeit den Einbau von D-Glutaminsäure in die Bakterienwand zu hemmen (HENNING 1985).

Der Schaden, der an dem Erreger durch die antimikrobielle Therapie entsteht, kann jedoch reversibel sein. Wenn das Abwehrsystem des Wirts die beschädigten Chlamydienfragmente nicht beseitigt, können sie sich regenerieren und bereits 5,5 Tage nach Beendigung der Chemotherapie wieder vermehren (GERBERMANN und PAUELS 1982).

Doxycyclin wirkt nur effektiv gegen metabolisch aktive Chlamydien, das heißt gegen sich in Vermehrung oder Teilung befindliche, intrazellulär gelegene Retikularkörperchen. Auf Chlamydien, die bei latenten Infektionen inaktiv in Makrophagen abgekapselt vorliegen, besitzt Doxycyclin keine Wirksamkeit. Für den therapeutischen Effekt ist entscheidend, dass nur eine langanhaltende Einwirkung die Vermehrung der Erreger hemmt und zur endgültigen Erregereliminierung der Organismus ein intaktes Immunsystem benötigt (FLAMMER 1997; JOHNSTON et al. 1999).

Bei Tauben hat sich in Abhängigkeit von der Virulenz der vorliegenden Serovare und der speziesspezifischen Immunantwort ein Zeitraum von 10-25 Tagen als ausreichend erwiesen. Nach den AUSFÜHRUNGSHINWEISEN ZUR PSITTAKOSE-VERORDNUNG (1987) soll die Anwendungsdauer für Tetracycline bei Brieftauben 25 Tage betragen.

2.7.4 Zugelassene Präparate, Anwendungsgebiete, Applikationsform und Dosierung

Derzeit gibt es in Deutschland kein zugelassenes veterinärmedizinisches Doxycyclin-Präparat für Ziervögel oder Geflügel.

Die aufgelisteten, verkehrsfähigen und sich im Handel befindlichen veterinärmedizinischen Präparate (www.vetidata.de), welche Doxycyclin-Hyclat als arzneilich wirksamen Bestandteil enthalten, sind aufgrund ihrer Applikationsform zur Umwidmung für Brieftauben nicht geeignet, bzw. es stehen keine Daten zur oralen Dosierung und Akzeptanz bei Tauben zur Verfügung.

2.7 Daten zu Doxycyclin

1. Ronaxan® 100 für Hunde und Katzen, zur Behandlung akuter und subakuter Infektionen des Respirationstraktes durch Doxycyclin-empfindliche Erreger (Streptococcus, Staphylococcus, Corynebacterium, Pasteurella, Bordetella, Acinetobacter, Mycoplasma, Bacteroides, Clostridium perfringens), insbesondere bei Rhinitis, Tonsillitis und Bronchopneumonie. Ronaxan® 100 wird in Form von Tabletten in der Dosierung 10 mg/kg KM Doxycyclin zweimal täglich verabreicht.
2. Pulmodox® 5% Premix, eine für Schweine zugelassene Doxycyclin-Arzneimittel-Vormischung zur Metaphylaxe von Atemwegserkrankungen durch Doxycyclin-empfindliche Erreger, zu verabreichen als Fütterungsarzneimittel in der Dosierung 12,5 mg Doxycyclin pro kg Körpergewicht pro Tag über 8 Tage.
3. Pulmodox®, ein für die Einzeltierbehandlung von Schweinen zugelassenes Pulver, welches über 8 Tage in der Dosierung 12,5 mg/kg KM pro Tag über das Futter verabreicht wird. Anwendungsgebiet ist die Metaphylaxe von Atemwegserkrankungen, hervorgerufen durch Doxycyclin-empfindliche Erreger (Pasteurella multocida und/oder Mycoplasma hyopneumoniae).
4. Ladoxyn® 100 mg/g, eine für Schweine zugelassene Doxycyclin-Arzneimittel-Vormischung, zur metaphylaktischen und therapeutischen Behandlung von Atemwegsinfektionen durch Doxycyclin-empfindliche *Mycoplasma hyopneumoniae*- und *Pasteurella multocida*-Stämme, zu verabreichen in der Dosierung 12,5 mg Doxycyclin pro kg Körpergewicht pro Tag über 8 Tage. Die Vormischung wird dazu dem fertigen Futter beigemischt.
5. Ladoxyn® 500 mg/g, ein für Schweine zugelassenes Präparat aus Doxycyclin-Granulat zur Herstellung einer Lösung zum Eingeben, zur Behandlung von Atemwegsinfektionen durch Doxycyclin-empfindliche *Mycoplasma hyopneumoniae*- und *Pasteurella multocida*-Stämme, zu verabreichen in der Dosierung 20 mg Doxycyclin pro kg Körpergewicht zum Eingeben über das Trinkwasser an 5 aufeinanderfolgenden Tagen.

In der Humanmedizin stehen gegenwärtig in Deutschland 26 orale und parenterale Doxycyclin-haltige Präparate zur Behandlung von Atemwegs-, Urogenital- und Magen-Darm-Trakt-Infektionen zur Verfügung (www.rote-liste.de). Für den Einsatz in der Ziervogelmedizin hat sich die Umwidmung von Injektionspräparaten wie Doxycyclin-ratiopharm® SF und DoxyHEXAL® bewährt. In der Ziervogelmedizin wird Doxycyclin zur systemischen Behandlung von Atemwegs-, Urogenital- und Magen-Darm-Traktinfektionen insbesondere mit gramnegativen Erregern angewandt. Aufgrund der allgemeinen Resistenzlage muss jedoch sichergestellt sein, dass die Erreger doxycyclinsensibel sind. Eine primäre Indikation liegt nur bei Hunde- und Katzenbissen

(Septikämiegefahr durch *Pasteurella multocida*) und zur Psittakose-/Ornithosetherapie und -prophylaxe vor. Doxycyclin kann parenteral und oral verabreicht werden.

Der Einsatz von Doxycyclin zur Bekämpfung von *Chlamydophila psittaci*-Infektionen ist gemäß der Verordnung zum Schutz gegen die Psittakose und Ornithose vom 20. Dezember 2005 möglich, und wird in einschlägiger Literatur der Ziervogelmedizin empfohlen (AUSFÜHRUNGSHINWEISE ZUR PSITTAKOSE-VERORDNUNG 1987; HAFEZ 2003; PENNYCOTT 2008). Doxycyclin wird in der Dosis von 75 mg/kg intramuskulär verabreicht, 6x im Abstand von 5 Tagen, dann 3x im Abstand von 4 Tagen (PEES 2004).

In Versuchen von GERBERMANN (1992) bei Eulen führten verschiedene Dosierungen von Doxycyclin zu therapeutisch effektiven Plasmaspiegeln gegen *Chlamydophila psittaci*, aber zur unterschiedlich langen Ausscheidung des Erregers nach Beendigung der Antibiotikatherapie. Bei hohen Dosen wurden die Erreger noch 4,5 Monate, bei niedrigen Dosen noch 9,5 Monate nach der Behandlung ausgeschieden.

2.7.5 Pharmakokinetik

Zur Pharmakokinetik und Bioverfügbarkeit von Doxycyclin bei Ziervögeln und Geflügel liegen bisher nur unvollständige Daten unter anderem aus Studien mit Papageienvögeln, Hühnern, Puten und Tauben vor.

Es kann davon ausgegangen werden, dass bezüglich der Pharmakokinetik von Doxycyclin sowohl im Vergleich zu Säugetieren, als auch innerhalb der Vögel spezies- und altersabhängige Unterschiede bestehen, die sich jedoch innerhalb von ähnlichen Spannen bewegen.

2.7.5.1 Resorptionsrate

Nach oraler Aufnahme wird Doxycyclin schnell und in einem hohen Maße aus dem Magen-Darm-Trakt, insbesondere aus dem Duodenum resorbiert. Doxycyclin besitzt nach Untersuchungen von SANTOS et al. (1996) und LACZAY et al. (2001) bei Puten und bei Broilern, ähnlich wie beim Hund (KROKER et al. 2002) eine orale Bioverfügbarkeit von bis zu 75 % vor. Die orale Bioverfügbarkeit ist somit etwas geringer als beim Menschen mit über 90 %.

Gründe für Unterschiede in der oralen Bioverfügbarkeit sind unter anderem darin zu suchen, dass Doxycyclin im Darm in individuellem Maße insbesondere an mehrwertige Metallionen bindet und die Resorption durch Bildung schwerlöslicher Chelate erschwert wird (STAHLMANN und LODE 2001). Durch Komplexbildung mit Kationen wie Calcium, Magnesium und Eisen wird die orale Resorption von Doxycyclin behindert (MURAKAWA 1993).

2.7 Daten zu Doxycyclin

So konnte auch im Gegensatz zu gefasteten Tieren bei gefütterten Puten (SANTOS et al. 1997) und Broilern (LACZAY et al. 2001) eine geringere und verlangsamte Absorption aus dem Magen-Darm- Trakt und eine niedrigere Bioverfügbarkeit festgestellt werden.

Im Vergleich mit anderen Tetracyclinen, wird die Resorption von Doxycyclin durch gleichzeitige Futteraufnahme nicht wesentlich beeinträchtigt (ROSENBLATT et al. 1966; WELLING et al. 1977; FLAMMER et al. 2001). Sie ist nur zu etwa 20 % reduziert, im Gegensatz zu Tetracyclin und Oxytetracyclin (PLUMB 2008).

RIVIERE und SPOO beschreiben 2001, dass erreichte Plasmakonzentrationen nach oraler Gabe von Doxycyclin in etwa denen nach parenteraler Verabreichung entsprechen; die Anwesenheit von Futter im Magen-Darm-Trakt blieb dabei ohne Einfluss auf die Absorption. RIVIERE und SPOO nehmen bei ihren Ausführungen keinen Bezug auf eine bestimmte Tierart.

2.7.5.2 Verteilung

Da Doxycyclin 5-10-fach lipophiler ist als andere Tetracycline, besitzt es eine verbesserte Resorption nach oraler Applikation, eine höhere Gewebepenetration und ein höheres Verteilungsvolumen (RIVIERE und SPOO 2001; FLAMMER et al. 2001).

DORRESTEIN et al. (1991) konnten maximale Blutspiegel 1 h nach intramuskulärer Injektion von 75 mg/kg Doxycyclin bei Brieftauben messen. Durch die einmalige Injektion konnte ein therapeutischer Blutspiegel von 1 µg/l Doxycyclin über 96-120 h erhalten werden, während in den meisten Organen (inkl. Augen und Gehirn) im Vergleich zum Blut höhere Spiegel festgestellt wurden. Nur Haut und Fettgewebe zeigten sehr geringe Doxycyclin-Gehalte.

Bei Legehennen, denen eine orale Dosis von 2,5-10 mg/kg verabreicht wurde, konnte 4 h post applikationem ein Plasma-Peak von 5,3 µg/ml gemessen werden (HUBER 1988). Im Vergleich, stellten sich bei Säugetieren, z. B. bei der Ziege (nach $1,15 \pm 0,37$ h) und beim Mensch (nach $2,7 \pm 0,6$ h) etwas schneller nach intramuskulärer Injektion von 20 mg/kg bzw. bei einer oralen Dosis von 100 mg/70 kg Maximalspiegel von $(5,29 \pm 1,24)$ µg/ml bzw. $(3,87 \pm 0,52)$ µg/ml ein.

Aufgrund seiner hohen Lipophilie geht Doxycyclin gut in Körpergewebe über und kann Zellmembranen schnell passieren. Bei Brieftauben (DORRESTEIN et al. 1986a), Legehennen (ARCHIMBAULT et al. 1983) und verschiedenen Psittazidenspezies (TRAUB 1982) konnte in Übereinstimmung zu Studien beim Mensch (FABRE et al. 1967 u. 1971) und Haussäugetieren (BLANCHARD et al. 1975; SCHACH VON WITTENAU und DELAHUNT 1966) gezeigt werden, dass die Konzentrationen in vielen Organen höher lagen als im Serum. Die höchsten Konzentrationen wurden in den Ausscheidungsorganen, wie Leber, Galle, Niere und Magen-Darm-Trakt gefunden. Hohe Gewebespiegel werden auch in der Lunge, der Milz, in Muskulatur und Knochen und im Genitaltrakt erreicht.

Doxycyclin ist in der Lage, die Plazentarschranke zu überwinden, bei Vögeln können in Eiern Doxycyclin-Spiegel nachgewiesen werden (YOSHIMURA et al. 1991). Es wird bei Säugetieren über die Milch ausgeschieden (CHAMBERS 2005) und es wird auch in die Kropfmilch der Taube sezerniert.

Die Penetration von Doxycyclin in das ZNS und den Liquor ist hingegen relativ gering (RIVIERE und SPOO 2001).

DORRESTEIN et al. (1990) ermittelte in seinen Studien an Brieftauben ein Verteilungsvolumen von 1,3-1,4 l/kg und SANTOS et al. (1996) für 6 Wochen alte Puten ein Verteilungsvolumen von 1,3 l/kg. Damit liegt es etwas niedriger als das Verteilungsvolumen beim Hund mit 1,7 l/kg (KROKER 2006) und etwas höher als das Verteilungsvolumen beim Mensch (0,75 l/kg) und der Katze (0,9 l/kg) (KROKER 2006).

2.7.5.3 Plasmaproteinbindung und Halbwertszeit

Doxycyclin hat durch die hohe Plasmaproteinbindung eine lange Halbwertszeit. Die Plasmaproteinbindung von Doxycyclin liegt bei Puten (SANTOS et al. 1996) durchschnittlich, ähnlich wie beim Menschen (BETHKE 1995) und anderen Haussäugetieren (RIOND und RIVIERE 1989) bei 70 bis 90 %, wobei zwischen den einzelnen Proteinfractionen keine Unterschiede in der Bindungsfähigkeit bestehen. Die Bindung ist reversibel (SCHACH VON WITTENAU und YEARY 1963).

Bei oraler Gabe von 50 mg/kg Doxycyclin an Psittaziden schwankte die Halbwertszeit zwischen 4 bis 10 h bei Nymphensittichen und *Amazona spp.*, und mehr als 20 h bei verschiedenen Kakadu- und Araspezies (FLAMMER 1997).

Die Halbwertszeit von Doxycyclin beträgt beim Mensch 12-18 h, beim Hund 10 h und bei der Katze 8 h (KROKER et al. 2002). Innerhalb von 48 Stunden werden 90 % der verabreichten Dosis von Doxycyclin ausgeschieden (WILSON 1988).

Intramuskuläre und subkutane Applikationen von Doxycyclin verlängern die Serumhalbwertszeit auf 40 bzw. 37 h. DORRESTEIN et al. (1986a) erklären dies durch eine andauernde, kontinuierliche Resorption aus der Injektionsstelle bei langsamer, konstanter Elimination. TRAUB (1982) fand bei Mohrenkopfpapageien nach intramuskulärer Injektion von 75 mg/kg Doxycyclin noch am 5. Tag Werte, die über 1 µg/ml Blut lagen. Etwas schneller erfolgt die vollständige Elimination bei einmaliger Gabe von Doxycyclin: innerhalb von 48 h wurde bei einer Einzeldosis von 25 mg/kg Doxycyclin an Puten 90 % der verabreichten Dosis ausgeschieden (SANTOS et al. 1996).

2.7.5.4 Metabolismus und Ausscheidung

Eine Metabolisierung von Doxycyclin findet allenfalls zu einem geringen Anteil (10 bis 50%) statt (BETHKE 1995), wobei in der Literatur unterschiedliche Angaben zum Vorkommen einer Biotransformation von Doxycyclin existieren. Kontroverse Aussagen beziehen sich möglicherweise auf die Anwesenheit von 4-Epidoxycyclin, ein antibakteriell inaktives Epimer von Doxycyclin. Dieses entsteht laut einigen Autoren spontan in saurem Medium (RIOND und RIVIERE 1988), andere Autoren vertreten die Meinung, dass es einen in der Leber am Cytochrom P450 entstehenden Metaboliten darstellt (EGER et al. 2004).

Die renale Exkretion spielt bei Doxycyclin, im Gegensatz zu älteren Tetracyclinen, eine untergeordnete Rolle. Doxycyclin wird nur zu etwa 30 % bis 40 % über die Niere ausgeschieden, da es aufgrund seiner Lipophilie im Tubulus stark rückresorbiert wird (ARONSON, 1980). Bei Hunden werden etwa 25% über glomeruläre Filtration ausgeschieden, beim Menschen etwa 55% (SCHACH VON WITTENAU und TWOMEY 1971). Durch eine Erhöhung des pH-Wertes im Urin kann die Ausscheidung über die Niere deutlich erhöht werden (JAFFE et al. 1974).

Der Hauptanteil des Doxycyclins diffundiert wegen seiner hohen Lipidlöslichkeit in mikrobiologisch aktiver Form direkt von der Blutbahn ins intestinale Lumen, vor allem im Bereich des Duodenums (SCHACH VON WITTENAU et al. 1972), und wird nicht vorher in der Leber umgewandelt. Mehr als 90% der Applikationsmenge von markiertem Doxycyclin wurde in den Fäzes bei Menschen, Ratten und Hunden gefunden (SCHACH VON WITTENAU et al. 1972; SCHACH VON WITTENAU und TWOMEY 1971). Zu einem geringen Anteil (< 5%) gelangt Doxycyclin durch biliäre Exkretion in den Darm (PLUMB 2008). Im Darm unterliegt Doxycyclin teilweise der Inaktivierung durch Konjugat- oder Chelatbildung, was eine Reabsorption verhindert (RIVIERE und SPOO 2001). Der nichtgebundene Teil kann in den enterohepatischen Kreislauf gelangen (STAHLMANN und LODE 2001). Durch Aktivierung von Darmenzymen kann die Bioverfügbarkeit beim Hund nach mehrmaliger Applikation von 75 % auf 45 % absinken (KROKER et al. 2002).

Auch bei Psittaziden ist bekannt, dass bei Langzeitanwendung der Wirkstoff zunehmend schneller aus dem Blut eliminiert wird, so dass im Rahmen der Psittakosetherapie bei einer 45-tägigen Applikation zunächst 6 Injektionen in einem Intervall von 5-7 Tagen und dann 3 weitere Injektionen in 4-tägigem Abstand zu verabreichen sind (GERLACH 1999). LÜTHGEN et al. (1979) beschreibt bei Kakadus, dass das Behandlungsintervall wegen erhöhter Eliminationsrate sogar bereits ab dem 20. Behandlungstag verkürzt werden musste.

2.7.6 Resistenzsituation von Doxycyclin bei Brieftauben in Deutschland

Manche Chlamydienstämme können Resistenzen gegenüber Tetracyclinen entwickeln, wenn sie über eine lange Zeit subtherapeutischen Spiegeln ausgesetzt werden (GERBERMANN 1997).

Die Resistenzmechanismen sind ähnlich wie bei Tetracyclin. Die plasmidübertragene Resistenz beruht auf einer Hemmung des Transportes in die Bakterienzelle und eine Verringerung der intrazellulären Anreicherung. Die Plasmide kodieren ein Transportsystem, welches das bereits aufgenommene Tetracyclin wieder aus der Zelle schleust und die Penetrationsgeschwindigkeit von neu eintretendem Tetracyclin herabsetzt. Ausserdem können Proteine eine Bindung von Tetracyclin am Ribosom verhindern oder es kann zu einer enzymatisch bedingten Inaktivierung des Wirkstoffes kommen (CHAMBERS 2005; PLUMB 2008).

Bei Vögeln sind nur in seltenen Einzelfällen Resistenzen gegenüber Tetracyclinen beschrieben worden (WACHENDÖRFER et al. 1973 und JOHNSON und SPENCER 1983). In der Literatur liegen keine Berichte zu Resistenzen von *Chlamydophila psittaci* gegenüber Doxycyclin bei Brieftauben vor (DORRESTEIN et al. 1990; PENA 2007).

2.7.7 Wechselwirkungen

Wechselwirkungen sind für eine Reihe von Medikamenten, Futterinhaltsstoffen sowie dem Trinkwasser dokumentiert und in Tabelle 1 zusammengefasst. Für die Anwendung bei der Brieftaube ist insbesondere zu beachten, dass Doxycyclin schwerlösliche Verbindungen mit di- oder trivalenten Kationen, wie sie beispielsweise in mineralischen Futterzusätzen enthalten sind, eingehen kann (STAHLMANN und LODE 2001). Dadurch kann die intestinale Resorption des Wirkstoffes eingeschränkt werden. In Studien die DORRESTEIN et al. (1990) zur Pharmakokinetik von Doxycyclin bei Tauben durchführte, wurde den Tieren aus diesem Grund im Behandlungszeitraum kein Grit angeboten. Für die Herstellung und Verfütterung von pelletiertem Futter wird ein maximaler Calciumgehalt von 0,7 % empfohlen (FLAMMER et al. 1991; FLAMMER 1997). Während bei gefütterten Puten (SANTOS et al. 1996) die Resorption von Doxycyclin im Magen-Darm-Trakt und die daraus resultierende Bioverfügbarkeit deutlichen Schwankungen von 40 – 60 % unterliegen kann, sind diese bei Broilern (LACZAY et al. 2001) geringer ausgeprägt. Beim Menschen, Säugetieren und anderen Vogelarten wie Psittaziden hingegen ist die Resorption von Doxycyclin entscheidend weniger durch Nahrungsaufnahme gestört, als dies bei anderen Tetracyclinen der Fall ist (SHAW und RUBIN 1986, FLAMMER et al. 2001). Bei Lösung von Doxycyclin in kalkhaltigem Trinkwasser ist zu berücksichtigen, dass es durch Wechselwirkung mit Ca-Ionen zu einer Ausfällung von unlöslichen Doxycyclin-Chelaten (SANTOS et al. 1997) kommen kann.

2.7 Daten zu Doxycyclin

Tabelle 1: Wechselwirkungen mit Doxycyclin (Quelle: modifiziert aus: KLEIN und CUNHA 1995)

Substanz	Effekt
Ca-, Mg-, Al-haltige Antacida	Verringern die Resorption von Doxycyclin
Eisensulfat	Verringert die Resorption von Doxycyclin
Natriumbicarbonat	Verringert die Resorption von Doxycyclin
Cimetidin	Verringert die Resorption von Doxycyclin
Antiepileptika (Carbamazepine, Diphenylhydantoin)	Verringern die Halbwertszeit von Doxycyclin
Barbiturate	Verringern die Halbwertszeit von Doxycyclin
Antikoagulantien	Intravenöse Applikation von Doxycyclin kann antikoagulierend wirken
Penicilline	Störung der bakteriziden Wirkung von Penicilline
Orale Kontrazeptiva	Reduzierung des Östrogenspiegels

2.8 Verträglichkeit von Doxycyclin

2.8.1 Unerwünschte Wirkungen allgemein

Tetracycline weisen eine Reihe von zum Teil speziesspezifischen, Nebenwirkungen auf. Dennoch stellen sie aus pharmakologischer Sicht eine Gruppe relativ sicher anzuwendender Antibiotika dar (CHAMBERS 2005), innerhalb derer Doxycyclin qualitativ vergleichbare Nebenwirkungen besitzt, jedoch insgesamt weniger toxisch ist.

Nach oraler, aber auch bei parenteraler Anwendung von Tetracyclinen kommt es häufig zu gastrointestinalen Störungen mit Erbrechen, Meteorismus und Diarrhöen, bedingt entweder durch direkte Irritation durch nicht resorbiertes Arzneimittel oder durch Störungen der physiologischen Darmflora (KROKER 2006). Jedoch zeigte Doxycyclin bei Untersuchungen am Menschen aufgrund seiner schnellen und annähernd vollständigen enteralen Resorption weniger Nebenwirkungen auf die autochthone Darmflora als andere Tetracycline. Im Gegensatz zu konventionellen Tetracyclinen, welche vorwiegend renal eliminiert werden, wird Doxycyclin überwiegend als inaktives Konjugat mit den Faeces ausgeschieden. Dieses Konjugat besitzt keine antimikrobielle Aktivität mehr, was Nebenwirkungen auf die Darmflora ebenso mindert (CHAMBERS 2005).

Eine vorwiegend extrarenale Elimination verringert außerdem die Gefahr der Kumulation aufgrund renaler Funktionsstörungen (FLAMMER 1987), weshalb Doxycyclin Mittel der Wahl ist bei Erkrankungen, bei denen Tetrazykline indiziert und Nierenschäden vorhanden sind.

Die bei unsachgemäßer Lagerung (zu feucht, zu hohe Temperaturen) über Dehydrierung des Moleküls entstehenden Epianhydro- oder Anhydroprodukte haben eine nephrotoxische Wirkung.

Die Bildung von Anhydrotetracyclin nach Lichteinwirkung wird mit der Entstehung von Photodermatitiden in Verbindung gebracht (KROKER 2006).

Hepatotoxische Nebenwirkungen treten vor allem bei Gabe hoher therapeutischer Dosen oder wiederholter Verabreichung von Doxycyclin auf. Während bei anderen Tetracyclinen häufig eine Lebertoxizität, die histologisch als fettige Degeneration erkennbar ist, beschrieben wird (BREITENBUCHER und CROWLEY 1970; STAHLMANN und LODE 2005), sind Berichte über Leberveränderungen nach Doxycyclingaben deutlich seltener (LIENART et al. 1992; BJÖRNSSON et al. 1997). Die Gefahr einer Leberschädigung aufgrund von Kumulation durch renale Funktionsstörungen ist bei Doxycyclin aufgrund des vorwiegend extrarenalen Eliminationsweges gering (CHAMBERS 2005).

Die meisten Tetracyclin-Formulierungen sind aufgrund ihrer lokal reizenden Eigenschaften eher für die orale bzw. intravenöse Anwendung geeignet. Intramuskuläre Applikation kann von milden Gewebsirritationen bis zu Muskelnekrosen führen, je nach verabreichtem Präparat und Applikationsvolumen. Langzeitwirksame Formulierungen wirken aufgrund der längeren Verweildauer am Applikationsort oft stärker irritierend (RIVIERE und SPOO 2001).

Die in Deutschland erhältlichen Injektionspräparate Doxycyclin-Jenapharm® und Vibravenös® können bei Vögeln zur intramuskulären Injektion angewendet werden und sind weit weniger lokal reizend als Oxytetracyclin-Präparate (GERLACH 1999).

Nach oraler Aufnahme von Doxycyclin wurde das Auftreten von Oesophagus-Ulcera beschrieben. Verursacht werden diese durch Inkompatibilitäten der Tetracycline mit di- und trivalenten Kationen (Ca, Cu, Fe, Mg), welche zu Schleimhautreizungen führen (KÜHNERT 1991).

Bei schneller intravenöser Applikation wurden bei Rind, Pferd und Hund Blutdruckabfall, Schweißausbruch und Unruhe beobachtet, wobei jedoch eine ursächliche Beteiligung der verwendeten Lösungsvermittler wahrscheinlich ist (KROKER 2006).

Weder im Tierversuch, noch bei der Anwendung beim Menschen wurden laut CZEIZEL und ROCKENBAUER (1997) teratogene Auswirkungen nach Doxycyclin-Applikation beobachtet.

Dennoch ist die Anwendung von Doxycyclin und anderen Tetracyclinen beim Menschen während der Schwangerschaft und während der Zahnbildung kontraindiziert, da Tetracycline mit zwei- und dreiwertigen Kationen Chelate bilden und zu einer Ablagerung von Tetracyclin-Calcium-Orthophosphat-Chelaten in Knochenwachstumszonen und im Zahnschmelz führen. Die Folgen

2.8 Verträglichkeit von Doxycyclin

sind Wachstumsstörungen und Verfärbungen. Dieser Effekt ist reversibel (STAHLMANN und LODE 2005).

Bei längerer Anwendung oder Überdosierung kann es neben der gewünschten Blockade der bakteriellen Proteinbiosynthese zur Störung der Proteinbiosynthese in der Eukaryontenzelle kommen, bezeichnet als „kataboler Effekt“. Die Affinität zu den 80S-Ribosomen der Eukaryonten ist jedoch relativ gering (RIVIERE und SPOO 2001).

Bei Langzeittherapie mit Tetracyclinen können Blutveränderungen wie Leukozytose, atypische Lymphozyten, toxische Veränderungen an Granulozyten und thrombozytische Purpura auftreten (CHAMBERS 2005).

Die Toxizität von Doxycyclin ist im Vergleich zu anderen Tetrazyklinen geringer (KROKER 2006). Während die intravenöse LD₅₀ bei der Maus 150 mg/kg KM beträgt, vertragen Hunde eine orale Dosierung von 250 mg/kg ohne klinische Symptome, gleichzeitig führt die intravenöse Applikation von mehr als 30 mg/kg KM zu Erbrechen. Extreme Überdosierungen lösen Lähmungen des Vasomotoren- und des Atemzentrums und eine neuromuskuläre Blockade aus (KÜHNERT 1991).

2.8.2 Unerwünschte Wirkungen speziell beim Vogel

Auch beim Vogel ist beschrieben, dass bei Langzeitapplikation Störungen der Darmflora und daraus folgende Sekundärinfektionen und Gewichtsverlust auftreten können (FLAMMER 1997), im Vergleich zur Anwendung von Chlortetracyclin und Oxytetracyclin sind diese jedoch deutlich geringer ausgeprägt (Flammer et al. 2001).

DRUMEV et al. (1982) ermittelten beim Huhn für Doxycyclin eine LD₅₀ von 2500 mg/kg KM.

Nebenwirkungen von Doxycyclin wurden in Studien an Papageienartigen nach oraler Applikation einer therapeutischen Dosis für die Behandlung einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion (Plasmaspiegel > 1 µg/ml) über 45 Tage beschrieben. Diese traten in Form einer akut toxischen Hepatose auf, mit einem Anstieg von AST, LDH und Gallensäuren. Klinische Symptome bei den behandelten Vögeln umfassten Anorexie, Gewichtsverlust, Inaktivität, gesträubtes Gefieder, Diarrhoe und gelbe Harnsäure. Ergebnisse verschiedener Studien belegen, dass beim Erstellen eines Therapie-Regimes innerhalb der Gruppe der Papageienartigen nicht zwischen Spezies extrapoliert werden sollte. Wellensittiche zeigen besonders häufig Anzeichen toxischer Nebenwirkungen von Doxycyclin (FLAMMER 2000; FLAMMER 2006).

In Studien an Nymphensittichen wurden nach intramuskulärer Doxycyclin-Applikation deutliche Gewebsirritationen, wie Schwellung und Hämatombildung, dokumentiert. Bei einigen der behandelten Vögel waren die Injektionsstellen als verhärtete Bezirke noch 5 bis 6 Wochen nach Therapieende zu fühlen. Bei ad-libitum-Gabe von Doxycyclin-Trinkwasserlösung, von Doxycyclin in Saatenfutter, bzw. in Mashfutter traten Nebenwirkungen in Form von erhöhten Leberenzymwerten

bzw. erhöhten Harnsäurewerten auf; Vögel, die Mashfutter mit Doxycyclin erhielten, hatten deutlich höhere Doxycyclin-Plasmaspiegel als die Tiere, die Doxycyclin über Saatenfutter erhielten; sie zeigten außerdem Anzeichen einer akuten Vergiftung (POWERS et al. 2000).

Die über Wochen andauernde gewebsreizende Wirkung von Doxycyclin nach intramuskulärer Applikation konnte sowohl in einer Studie von POWERS et al. (2000) für Nymphensittiche, als auch in einer Studie an Brieftauben von DORRESTEIN et al. (1990) bestätigt werden. Da Sporttauben auf eine intakte Brustmuskulatur angewiesen sind, um volle Flugleistung erbringen zu können, wiegt diese Nebenwirkung von Doxycyclin beim sportlich genutzten Vogel besonders schwer.

2.9 Studien an Tauben – orale Verabreichung von Doxycyclin

Zur Wirksamkeit von Doxycyclin in der Behandlung der Ornithose veröffentlichte PADILLA et al. 2005 eine Feldstudie an Fruchttauben und Ringeltauben im Saint Louis Zoo. Bei ad libitum-Gabe einer Trinkwasserlösung mit 500 mg Doxycyclinhydrochlorid/l Trinkwasser konnte über 45 Tage eine gute klinische Wirksamkeit dokumentiert werden. Der Großteil der Tiere erreichte einen Plasmaspiegel von 1 µg/ml, einige Vögel konnten diesen jedoch nicht über den gesamten Studienzeitraum halten. Während vor der Behandlung bei 60% der Tiere *Chlamydophila psittaci* mittels PCR in Kloakentupfern nachgewiesen werden konnte, waren nach der Therapie alle Tiere negativ. Es wurden keine Nebenwirkungen beobachtet.

DORRESTEIN et al. (1990) stellten in einer Studie an Brieftauben fest, dass nach einmaliger oraler Gabe von 40 mg Doxycyclin (Vibramycin® Sirup, Pfizer Ltd) pro kg KM ein Plasmapeak von 7,56 µg/ml nach 3,7 h zu messen war. Die Bioverfügbarkeit lag mit 35% relativ niedrig. Es ergab sich eine Eliminationshalbwertszeit von 5,3 h. Es handelte sich hier um eine Doxycyclin-Calcium Chelat Suspension in der Lösungskonzentration 10 mg/ml.

Nach Verabreichung der gleichen Dosis von Doxycyclin an Türkentauben konnten pharmakokinetische Unterschiede zwischen den beiden Taubenarten nachgewiesen werden, die DORRESTEIN et al. (1990) auf einen höheren Metabolismus aufgrund der geringeren Körpermasse der Türkentauben zurückführten.

Obwohl sich die pharmakokinetischen Daten von Doxycyclin sowohl bei Säugetieren und Vögeln, als auch innerhalb der Vögel in ähnlichen Spannen bewegen, sind speziesspezifische Untersuchungen für die orale Anwendung und den Nachweis des effektiven Einsatzes zur Ornithosetherapie bei der Brieftaube notwendig.

2.10 Überlegungen zur Trinkwassermedikation bei Brieftauben

Für die Brieftaube zeichnete sich in den letzten Jahren die Entwicklung ab, anstelle der traditionellen parenteralen Applikation von Chemotherapeutika, eine orale Applikation über das Trinkwasser vorzuziehen. Die Verabreichung von Doxycyclin über das Trinkwasser hat den Vorteil, dass Tierbestände ohne besonderen Organisations- und Arbeitsaufwand medikamentell versorgt werden können (FLAMMER et al. 2001, KAMPHUES und SIEGMANN 2005). Den Tieren wird der Stress des Einfangens und Behandelns erspart (DORRESTEIN et al. 1986b). Auch trifft für Tauben wie für viele Vogelspezies zu, dass erkrankte Tiere häufig inappetent sind, aber immer noch Wasser aufnehmen (SANTOS et al. 1997). Komplizierte Herstellungsverfahren von medikiertem Futter, welches nicht immer optimal angenommen wird, können so umgangen werden (POWERS et al. 2000).

Während die Behandlungsplanung bei der mit einer oralen Einzeltierbehandlung verabreichten Wirkstoffdosis in der Regel möglich ist, ergeben sich besondere Probleme bei der Behandlung von Tieren über das Trinkwasser. Es muss berücksichtigt werden, dass die Trinkwasseraufnahme stark von der Geschmacksänderung bei antibiotikasupplementiertem Wasser und von individuellen und äußeren Einflussfaktoren abhängig ist (POWERS et al. 2000; FLAMMER et al. 2001).

Bei der Therapie kranker Tiere kommt hinzu, dass je nach Stadium der Erkrankung die Wasseraufnahme entweder deutlich erhöht oder ganz eingestellt sein kann (DORRESTEIN et al. 1986b; LÜTHGEN 2006). Durch die Krankheit oder den Einsatz von Medikamenten können aufgrund von Leber- und Nierenfunktionsstörungen Polydipsie und Polyurie auftreten (DORRESTEIN et al. 1986b).

Mit schwankender Trinkwasseraufnahme werden unterschiedliche Dosierungen aufgenommen. Oftmals kann die Forderung nach ausreichend lange oberhalb des MHK-Werts liegenden Konzentrationen nicht erfüllt werden, subtherapeutische Wirkspiegel werden erzielt, der Behandlungserfolg bleibt aus. Suboptimale Konzentrationen fördern weiterhin Resistenzentwicklung. Bei übermäßiger Aufnahme medikierten Trinkwassers steigt die Wahrscheinlichkeit des Auftretens potentieller Nebenwirkungen und die der Intoxikation (FLAMMER et al. 2001). Im Folgenden werden speziesspezifische und haltungsbedingte Einflussfaktoren auf die Trinkwasseraufnahme aufgelistet, die beim Angebot von Doxycyclin-haltigem Trinkwasser an Brieftauben berücksichtigt werden müssen:

Speziesspezifische Einflussfaktoren

- Trinkwasseraufnahme der Tauben in Abhängigkeit vom Lebensalter

HARPER (1996) gibt für Brieftauben für die tägliche Trinkwasseraufnahme Werte von 30-60 ml pro Tier und Tag an, BECKER (2008) durchschnittlich 50 ml pro Taube und Tag, wobei Unterschiede

zwischen Jungtieren und adulten Tieren vorliegen. Die pro Tag aufgenommene Trinkwassermenge sich im Wachstum befindlicher Tiere wird mit zunehmendem Körpergewicht relativ kleiner, da mit zunehmendem Alter der Wassergehalt des Körpers und die Körperoberfläche im Vergleich zur Körpermasse abnimmt (FICHTL 2005).

- **Reproduktion**

Bei Legetätigkeit steigt durch die körperliche Anstrengung und den hohen Wasseranteil, der in die Eier eingelagert wird, der Wasserverbrauch. Untersuchungen bei Hennen beispielsweise zeigen, dass die Trinkwasseraufnahme bei voller Legeleistung das Doppelte der Menge der ohne Legetätigkeit beträgt (VOGT zit. n. HILBRICH 1978).

Es muss weiter berücksichtigt werden, dass bei der Haltung in Einzelkäfigen keiner körperlichen Anstrengung im Zusammenhang mit Balz, Nestbau, Nestverteidigung, Nestlingsaufzucht ausgesetzt sind. Fütternde Elterntiere beispielsweise weisen durch die Produktion von Kropfmilch einen erhöhten Trinkwasserverbrauch von 60-120 ml pro Tier pro Tag auf.

- Geschmackssinn

Was den Geschmackssinn von Tauben betrifft, so geht VOGEL (1980) davon aus, dass diese sauer, salzig, bitter und süß unterscheiden können. In Untersuchungen an Felsentauben konnten je nach Art und Konzentration zugesetzter Substanzen Zu- und Abnahmen der Trinkwasseraufnahme beobachtet werden. Auf die Geschmacksqualität sauer und salzig reagierten die Tauben am stärksten mit Ablehnung.

DORRESTEIN et al. (1986b) verglich die Trinkwasserakzeptanz verschiedener Antibiotika und daraus resultierende Blutspiegel. Während Trinkwasser mit Ampicillin und Amoxicillin stärker als unmediziertes Trinkwasser aufgenommen wurden, so ging die Trinkwassermenge bei Chlortetracyclin sowie Doxycyclin stark zurück.

Beeinflussung des Wasserverbrauchs und der Wirkstoffaufnahme durch die Haltung

- Tränke- und Fütterungsregime

Der Therapieerfolg ist von der Art der Darreichung und der Formulierung des Medikaments abhängig (SANTOS et al. 1997). Die Tränkebehälter sollen so beschaffen sein, dass die Tauben nicht darin baden können, da ansonsten ein erhöhter Wasserverbrauch vorgetäuscht wird. Bei reduzierter Wasserqualität durch lange Standzeiten oder Kotverschmutzung sinkt die Aufnahmewilligkeit der Tauben (VOGEL 1980; KAMPHUES und SIEGMANN 2005). Berücksichtigt werden muss auch die Wasserlöslichkeit des Wirkstoffs im Trinkwasser (DORRESTEIN et al. 1986b) sowie die Haltbarkeit der hergestellten Lösung. Im Vergleich zu anderen Tetracyclinen ist Doxycyclin in wässriger Lösung relativ stabil (SANTOS et al. 1996). Schmutz, Desinfektionsmittelreste, Metalle sowie Sonnenlicht und außerdem Mineralstoffgehalt des Wassers

2.10 Überlegungen zur Trinkwassermedikation bei Brieftauben

können jedoch zum Wirksamkeitsverlust oder zur Ausfällung des Medikaments führen (SANTOS et al. 1997). Die Wasseraufnahme findet in Abhängigkeit von der Fütterungsmethode zu unterschiedlichen Zeitpunkten statt. Bei nur ein- oder zweimaligem Füttern pro Tag, wie es in der Taubenhaltung oft üblich ist, erfolgt der überwiegende Teil der Wasseraufnahme auch nur zu ein oder zwei Zeitpunkten, nämlich nach dem Fressen (VOGEL 1980). Bei ad libitum-Fütterung sind Futter- und Wasseraufnahme stärker über den Tag verteilt. Bei Fütterung von pelletiertem Futter wird häufig mehr Trinkwasser aufgenommen, als bei Fütterung von Saatenfutter. Interaktionen mit Futterbestandteilen können die Resorption von Doxycyclin ebenfalls beeinflussen (POWERS et al. 2000) (siehe Kapitel 2.7.7).

- Umgebungstemperatur und Luftfeuchtigkeit, Lichtzyklus

Die Regulation der Körpertemperatur beim Vogel erfolgt hauptsächlich durch Feuchtigkeits- und Wärmeabgabe über die große Oberfläche des Atmungstrakts (KAMPHUES und SIEGMANN 2005). Bei steigenden Temperaturen steigt die Wasserabgabe und damit der Wasserverbrauch. Dies ist besonders bei Temperaturen über 30 °C der Fall, wenn die hohe Temperatur der Luft keine Wärmeabgabe über die Haut durch Strahlung oder Konvektion mehr zulässt (KAMPHUES und SIEGMANN 2005, HOOIMEIJER 2006).

Bei niedriger Luftfeuchtigkeit, welche in der Regel bei steigenden Temperaturen und in beheizten Räumen vorliegt, wird dem Körper über die Oberfläche des Atmungstrakts ebenfalls mehr Feuchtigkeit entzogen und folglich der Wasserverbrauch erhöht.

Unzureichende Tageslichtlängen (im Herbst und im Winter) können in subtherapeutischen Doxycyclin-Plasmaspiegeln resultieren, da die Vögel nur bei Helligkeit Wasser aufnehmen (SANTOS et al. 1997).

- Freiflug

Eine hohe körperliche Beanspruchung stellen für Brieftauben Flüge dar. Bei einer Fluggeschwindigkeit von 70 km/h beträgt der Wasserverlust des Organismus 66 g/h (VOGEL 1980). Zudem ist bei Freiflug die Trinkwasseraufnahme schwer schätzbar, da die Brieftauben Wasser aus Pfützen, Dachrinnen, und ähnlichem aufnehmen (VOGEL 1980). Laut AUSFÜHRUNGSHINWEISEN DER PSITTAKOSE-VERORDNUNG (1987) ist Tauben der Freiflug während der Behandlung der Ornithose zu untersagen.

Es liegt in der Verantwortung der Brieftaubenzüchter (Besitzercompliance) nach Aufklärung durch die Tierärzte möglichst geeignete Therapiebedingungen zu schaffen, ein gutes Monitoring während der Bestandsbehandlung durchzuführen und eventuell die berechnete Trinkwassermenge anzupassen.

3 Tiere, Material und Methoden

3.1 Versuchstiere

Brieftauben (*Columba livia* f. domestica) beiderlei Geschlechts mit 450 g – 630 g Körpermasse wurden aus konventionellen Zuchten erworben, ein Großteil der Tiere stammte aus einer Zucht der Taubenklinik des Verbandes Deutscher Brieftaubenzüchter e.V. in Essen. Die Brieftauben waren durch Beringung individuell gekennzeichnet.

Sie wurden bei 22 °C und einer natürlichen Tageslichtlänge von 16 Stunden einzeln in 35 cm x 35 cm x 32 cm großen Käfigen gehalten. In jedem Käfig befand sich eine Sitzstange, unter jedem Käfig ein Kotblech. Bei den Futternäpfen handelte es sich um grüne, bei den Wassernäpfen um blaue, nach oben offene, 9,5 x 5 x 4,7 cm große, Polypropylengefäße zum Einhängen in das Käfiggitter. Handelsübliches Brieftaubenfutter (Garvo Taubenfutter 5590 Kurzschnäbel, Drempt, Niederlande) und Trinkwasser standen ad libitum zur Verfügung. Während des Versuchszeitraumes wurden dem Futter kein Grit und keine Mineralpulverzusätze beigelegt.

Durch eine allgemeine klinische Untersuchung, eine mikrobiologische Untersuchung von Tupferproben von Rachen, Kropf und Kloake, eine parasitologische Untersuchung eines Kropftupfers und von Kot sowie einer Untersuchung auf Salmonellen mittels Serologie, Anreicherung und Kultivierung aus dem Kot wurde der Gesundheitsstatus ermittelt.

Dazu wurden die Tupfer aus Rachen, Kropf und Kloake für 24 Stunden jeweils auf Columbia-Agar mit Schafblut, Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar und Sabouraud-Glucose-Agar bei 38 °C bebrütet. Anschließend erfolgte bei Hinweis auf das Vorliegen pathogener Keime eine Vereinzelung und nachfolgend eine Differenzierung der Keime mittels eines CrystalTM-Tube.

Ein entnommener feuchter Kropftupfer wurde unmittelbar nach der Entnahme bei 100-facher Vergrößerung mikroskopisch auf Flagellaten untersucht.

Von jeder Taube wurde eine Sammelkotprobe mittels Flotation auf Eier von Spul-, oder Haarwürmern sowie Kokzidien-Oozysten untersucht. Der entnommene Kot wurde mit einer gesättigten Kochsalz-Lösung floriert. Die Beurteilung erfolgte semiquantitativ anhand von fünf Blickfeldern (vier Eckfelder und ein zentrales Feld) bei 100-facher Vergrößerung.

Es wurde von jeder Taube Kot über 3 Tage gesammelt. Aus dem Sammelkot wurde eine Kotprobe mittels 24-stündiger Anreicherung in einer Selenit-Lactose-Bouillon und anschließender 48-stündiger Bebrütung bei 38 °C auf Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar auf Salmonellen untersucht.

1,5 ml Blut wurden aus der Flügelvene zur Serumgewinnung entnommen. Das Serum wurde mittels Antigen-Antikörper-Agglutinationstest mit einem Salmonella Typhimurium-OH-Testantigen (1,4,5,12:i:1,2) auf agglutinierende Antikörper gegen Salmonellen untersucht.

3.1 Versuchstiere

Brieftauben mit klinischen Krankheitssymptomen, mit hochgradigem Parasitenbefall und Salmonellenträger wurden von der Studie ausgeschlossen.

Ein gering- bis mittelgradiger Befall mit Trichomonaden, Kokzidien und Würmern sowie eine erfolgreiche Behandlung gegen diese Parasiten führte aufgrund der Ähnlichkeit zu Feldbedingungen nicht zum Ausschluss von der Studie.

Die Behandlung musste jedoch spätestens zwei Monate vor Beginn der Experimente durchgeführt worden sein.

Ansonsten waren die Tiere lediglich mit Impfungen gegen Pocken- und Paramyxovirusvorbehandelt.

An den Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation nahmen zu gleichen Teilen männliche und weibliche Tiere teil. Die Geschlechtsbestimmung erfolgte durch endoskopische Untersuchung im Vorfeld der Studie. Dabei konnten gleichzeitig innere Organe beurteilt werden.

Die endoskopische Untersuchung erfolgte nach KORBEL (2007).

Die Versuche begannen jeweils mit einem präexperimentellen Teils mit einer zweiwöchigen Akklimationsphase. In dieser Zeit sollten sich die Tiere an die neuen Haltungsbedingungen gewöhnen. Drei Tage vor Beginn des experimentellen Teils wurde in der Akklimationsphase zur Gewöhnung der Tiere an die Medikamentenapplikation mit einer Scheinbehandlung mit einem dem Versuchsaufbau entsprechenden Placebo begonnen.

Der klinische Zustand der Tauben wurde täglich durch tierärztliche Adspektion beurteilt. Die Adspektion erfolgte nach SCOPE (2007a).

Am Beginn der Akklimationsphase, vor, während und am Ende der Behandlungsphase wurden die Tiere zusätzlich klinisch untersucht. Die klinische Untersuchung erfolgte nach SCOPE (2007a). Wurden die gleichen Tiere für verschiedene Untersuchungen verwendet, so lag zwischen den Versuchen ein Zeitraum von mindestens 3 Monaten um eine vollständige Elimination von Doxycyclin zwischen den Versuchsreihen zu gewährleisten.

Alle Untersuchungen wurden nach den GUIDELINES FOR GOOD CLINICAL PRACTICE (GCP) (2003) und den GRUNDSÄTZEN DER GUTEN LABORPRAXIS (GLP) (2001) durchgeführt.

3.2 Untersuchungen zu Plasma- und Gewebespiegeln von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation

3.2.1 Testpräparat

Die Untersuchungen wurden mit einem neu entwickelten Doxycyclin-Pulverpräparat durchgeführt. Dieses Präparat wurde von der Firma Hesse, Hohenlockstedt, zur Verfügung gestellt. Nach

Analysenzertifikat des Herstellers (Wirtschaftsgenossenschaft der Deutschen Tierärzte (WDT), Garbsen) hatte das Präparat der Charge V01112 folgenden Wirkstoffgehalt:

Doxycyclin-Hyclat (Molmasse 513): 13,85 %, entsprechend

Doxycyclin-Base (Molmasse 444): 12,00 %.

Weitere Bestandteile waren:

Gemisch von Laktose und Dextrose zu gleichen Teilen: 83,0 %

Siliciumdioxid: 5,0 %.

3.2.2 Untersuchungen zur Plasmakinetik nach einmaliger oraler Doxycyclinapplikation von 60 mg/kg KM

Dieser Versuch diente der Ermittlung der Pharmakokinetik von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation. 15 Brieftauben erhielten einmalig mittels Knopfsonde in den Kropf (intraingluvial) eine Doxycyclinlösung mit einer Wirkstoffdosis von 60 mg/kg KM.

Vor der Applikation wurde den Tauben über Nacht 10 Stunden das Futter entzogen und 8 Stunden nach der Applikation wieder angeboten. Die Applikation erfolgte um 8.00 Uhr morgens. Für die Applikation wurde eine Lösung von 10,0 g Pulverpräparat in 100 ml destilliertem Wasser hergestellt. Unter Berücksichtigung des Gehalts von 120 mg Doxycyclin(-Base)/g Pulverpräparat resultierte ein Applikationsvolumen von 5,0 ml/kg KM. Anschließend wurde die Knopfkanüle mit 3,0 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung nachgespült.

Unmittelbar vor der Applikation (bei 6 Tieren) sowie 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 (bei jeweils 3 Tieren), 16 (bei 4 Tieren), 24 (bei 3 Tieren), 36 (bei 6 Tieren), 40 (bei 4 Tieren), 48 (bei 6 Tieren) und 72 Stunden (bei 4 Tieren) nach der Applikation wurde Blut aus der *Vena ulnaris* entnommen und der Doxycyclinspiegel im Plasma bestimmt.

3.2.3 Untersuchungen zur Plasmakinetik von Doxycyclin bei 14-tägiger oraler Applikation von 30 mg/kg KM pro Tag

Basierend auf der in den Untersuchungen zur Plasmakinetik nach einmaliger oraler Doxycyclinapplikation ermittelten Plasma-Halbwertszeit für Doxycyclin sollte die Doxycyclin-Resorption unter Steady-state-Bedingungen bei oraler Applikation über zwei Wochen verfolgt werden. Ziel war die Aufrechterhaltung eines therapeutischen Doxycyclin-Wirkspiegels von >1,0 µg/ml zur Behandlung der Ornithose, dabei sollte auch Höhe und Schwankungsbreite der Doxycyclin-Plasmaspiegel erfasst werden. Auf Grundlage der Untersuchungen zur Plasmakinetik nach einmaliger oraler Doxycyclinapplikation von 60 mg/kg KM erfolgte nun eine Dosisanpassung auf 30 mg/kg KM täglich.

3.2 Untersuchungen zu Plasma- und Gewebespiegeln von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation

36 Brieftauben wurde über einen Zeitraum von 2 Wochen eine Doxycyclin-Lösung in der Tagesdosis von 30 mg/kg KM, verteilt auf zwei gleiche Einzeldosen per Knopfsonde intrainglual verabreicht. Die Applikation erfolgte entsprechend der Halbwertszeit um 8.00 und 16.00 Uhr. Für die Applikation wurde eine Lösung mit 6,25 g Pulverpräparat in 100 ml destilliertem Wasser hergestellt. Unter Berücksichtigung des Gehalts von 120 mg Doxycyclin (-Base)/g Pulverpräparat resultierte ein Applikationsvolumen von 2,0 ml/kg. Nach Applikation wurde die Knopfsonde mit 1,0 ml einer 0,9 %igen NaCl-Lösung nachgespült.

Am Tag vor der ersten Applikation wurde bei allen Tieren Blut entnommen, sowie an den Applikationstagen 2, 7 und 13 bei jeweils 8 Tieren zum Zeitpunkt der erwarteten Minimalspiegel (Trough-Spiegel), eine Stunde vor den Applikationen um 7.00 und 15.00 Uhr, des weiteren zum Zeitpunkt der erwarteten maximalen Plasmaspiegel zwei Stunden nach den Applikationen um 10.00 Uhr und 18.00 Uhr.

Am 14. Tag erfolgte um 8.00 Uhr die letzte Doxycyclin-Applikation und daran anschließend wurden zwecks Verfolgung der Abflutungskinetik des Wirkstoffs bei 4 Brieftauben weitere Blutentnahmen zu folgenden Zeitpunkten post applicationem durchgeführt: nach 2, 6, 12, 24, 32 48, 56 und 73 h.

3.2.4 Untersuchungen zur Ermittlung der Gewebespiegel in Leber und Lunge nach 14-tägiger oraler Applikation von 30 mg/kg KM pro Tag

Im unmittelbaren Anschluss an die Untersuchungen zur Plasmakinetik von Doxycyclin bei 14-tägiger oraler Applikation von 30 mg/kg KM Doxycyclin wurden am 14. Tag jeweils 6 Tauben zu den Zeitpunkten 2 und 7 h nach der letzten Doxycyclin-Applikation euthanasiert. Dazu wurden sie mit Ketamin/Diazepam (40 mg/kg KM/ 5 mg/kg KM i.m.) anästhesiert und erhielten zur Vermeidung der Entstehung von Tötungsartefakten nach Erreichen der chirurgischen Toleranz eine intravenöse Kaliumchloridinjektion (2 mmol/kg KM). Organproben von Lunge, als Zielorgan bei der Ornithosetherapie, und Leber, als wesentliches Eliminationsorgan des Wirkstoffes Doxycyclin, wurden entnommen. In den gewonnen Proben wurden die Doxycyclin-Gehalte bestimmt.

3.2.5 Untersuchungen zur Plasmakinetik nach Trinkwasserapplikation von Doxycyclin

Diese Untersuchungen sollten die Akzeptanz des mit Doxycyclin supplementierten Trinkwassers bei freiwilliger Aufnahme durch die Brieftauben sowie die daraus resultierenden Doxycyclin-Plasmaspiegel überprüfen. Ziel war es, ein Dosierungsregime für die Trinkwasserapplikation von Doxycyclin bei Brieftauben zu entwickeln und etablieren.

3.2.5.1 Versuch zur Ermittlung des Trinkwasserverbrauchs

In einem Vorversuch (Versuchstiere aus 3.2.2) wurde über 5 Tage vor Versuchsbeginn mit der Doxycyclinapplikation der tägliche Trinkwasserverbrauch von 15 Tauben ermittelt, um unter den vorliegenden Haltungsbedingungen in den hier durchzuführenden Versuchen die notwendige Doxycyclin-Trinkwasserkonzentration in Abhängigkeit von der tatsächlichen Trinkwasseraufnahme berechnen zu können.

Es wurde täglich um 8.00 Uhr morgens an jedem Einzelkäfig der Trinkwasserbehälter mit 100 ml Trinkwasser frisch befüllt. Beim Austausch am nächsten Morgen erfolgte eine Volumenmessung des nicht verbrauchten Trinkwassers, so dass aus der Differenz das aufgenommene Volumen ermittelt werden konnte. Als Korrekturglied wurde dabei eine experimentell ermittelte, täglich weitgehend konstante Wasserverdunstung von 10% berücksichtigt.

3.2.5.2 Orientierender Versuch zur Trinkwassermedikation mit 800 mg/l Doxycyclin (über 3 Tage)

In einem orientierenden Versuch wurde 4 Tieren 3 Tage lang Doxycyclin-mediziertes Trinkwasser angeboten. Dieser Versuch sollte orientierende Werte bezüglich der Dosisanpassung im Zusammenhang mit der Akzeptanz von mediziertem Trinkwasser liefern. Dazu wurde täglich 8.00 Uhr morgens an jedem Einzelkäfig der Trinkwasserbehälter mit 75 ml Trinkwasser frisch befüllt, dem 800 mg/l Doxycyclin(-Base) (als aufgelöstes Pulverpräparat) sowie 1,0 g Zitronensäure/l zur Komplexbildung von Calciumionen beigemischt waren. Der tatsächliche Verbrauch an mediziertem Trinkwasser wurde analog der oben beschriebenen Vorgehensweise ermittelt. Zusätzlich wurden stichprobenweise Proben des zurück gemessenen Trinkwassers für die HPLC-Analyse entnommen, um darin den Doxycyclin-Gehalt nach 24 Stunden zu bestimmen (Stabilitätsprüfung). Am Tag vor der ersten Applikation, an den Versuchstagen 2 und 3 der Trinkwasserapplikation wurde jeweils um 8.00 und 16.00 Uhr sowie nochmals am anschließenden 4. Tag um 8.00 Uhr bei zwei Brieftauben Blut genommen und der Doxycyclin-Plasmaspiegel ermittelt.

Zur Überprüfung der Akzeptanz der Trinkwasserapplikation von Doxycyclin wurde vergleichend bei vier Brieftauben unter gleichen Haltungsbedingungen über 3 Tage die tägliche Aufnahme unmedizierten Trinkwassers bestimmt (Parallelgruppen-Studie).

3.2.5.3 Versuch zur Trinkwassermedikation mit 750 mg/l Doxycyclin (über 10 Tage)

Basierend auf den Ergebnissen des Vorversuchs wurde im Hauptversuch 18 Brieftauben über 10 Tage ad libitum Doxycyclin-supplementiertes Trinkwasser in der Konzentration von 750 mg/l angeboten, dem 1,0 g Zitronensäure/l beigemischt war. Die tägliche Trinkwasseraufnahme wurde sowohl in der Akklimatisationsphase über 3 Tage lang beim Angebot von Leitungswasser, als auch

3.2 Untersuchungen zu Plasma- und Gewebespiegeln von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation

über 10 Tage lang bei Angebot von Doxycyclin-supplementiertem Trinkwasser nach dem obendargestellten Prinzip gemessen.

Am Tag vor dem erstmaligen Angebot von Doxycyclin-haltigem Trinkwasser sowie am 1., 2., 4., 6., 8. und 10. Tag des Trinkwasserangebots wurde um 8.00 und 16.00 Uhr bei jeweils 9 Brieftauben aus der *Vena ulnaris* Blut entnommen und der Doxycyclin-Gehalt im Plasma bestimmt.

3.2.6 Probennahme

Die Entnahme der Blutproben erfolgte aus der *V. ulnaris* in heparinisierte Polypropylen-Zentrifugenröhrchen (20 IE Heparin/ml Blut). In allen Versuchen wurde unmittelbar nach der Blutentnahme das Plasma durch Zentrifugation (10 min bei 1500 g) abgetrennt und im Tiefkühlschrank bei -70 °C in Polypropylengefäßen bis zur Analyse aufbewahrt.

Die entnommenen Organproben wurden mit einer geringen Menge destilliertem Wasser abgespült, mit Zellstoff trocken getupft und ebenfalls bis zur Analyse bei -70 °C in Polypropylengefäßen aufbewahrt.

3.2.7 Hochdruckflüssigkeitschromatographische Bestimmung von Doxycyclin

Die Konzentration von Doxycyclin im Plasma und in den Organen (Leber und Lunge) wurde unter Verwendung einer im Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig erarbeiteten und validierten spezifischen HPLC-Methode mit UV-Detektion bei der Wellenlänge des Absorptionsmaximums von Doxycyclin (350 nm) bestimmt. Als interner Standard wurde nach DE LEENHEER und NELIS (1979) Demeclocyclin verwendet. Durch vorhergehende Festphasen-Extraktion mit Bond Elut C18-Säulen basierend auf einer Arbeit von SHERIDAN und CLARKE (1988) wurde eine weitgehende Abtrennung von gegebenenfalls störenden Bestandteilen im Plasma bzw. den Organhomogenaten erzielt.

3.2.7.1 Probenaufarbeitungen und Festphasenextraktion für Plasmaproben

Die Isolierung des Wirkstoffs Doxycyclin aus dem Plasma erfolgte durch Festphasenextraktion an Bond-Elut-C18-Säulen (100 mg, 1 ml) nach folgendem Schema:

Plasmavorbereitung: In 1,5 ml Reaktionsgefäße wurden 400 µl Phosphat-Citrat-Puffer, 0,2 mol/l, pH 4,0, sowie 25 µl Interner Standard (Demeclocyclin 5 mg/ml) und 150 µl Probe (Probe zur Kalibrierung bzw. Plasmaprobe) pipettiert.

Bei den Proben zur Kalibrierung wurden Doxycyclin-Zusatzlösungen in den Konzentrationen von 0,2, 0,4; 0,8; 1,2; 1,8; 2,4; 3,6 und 4,8 µg/ml zu unbehandelten Plasmaproben zugesetzt.

Die Lösungen wurden im Reax 2000 10 s intensiv gemischt, dann 5 min bei 10000 U/min in einer Tischzentrifuge zentrifugiert.

Konditionieren der Extraktionssäulen: Das Konditionieren der Bond-Elut-C18-Extraktionssäulen erfolgte mit 2 ml Methanol, gefolgt von 2 ml Phosphat-Citratpuffer, 0,2 mol/l.

Probenaufgabe: 500 µl Zentrifugationsüberstand des wie oben vorbereiteten Plasmas wurden als Probe auf die Säulen aufgegeben.

Waschen der Extraktionssäulen: Im Anschluß wurden die Säulen mit 1000 µl Phosphat-Citrat-Puffer, 0,05 mol/l, pH 4,0 gewaschen. Danach 10 min bei ca. 10-15 mm Hg trocken gesaugt.

Elution: Das adsorbierte Doxycyclin wurde mit 1000 µl Gemisch aus Methanol und Phosphorsäure (0,2 mol/l), 9 Teile + 1 Teil, eluiert.

Abdampfen des Elutionsmittels: Das Elutionsmittel wurde in einer Barkey-Probenkonzentrierungseinheit mittels Stickstoffbegasung bei 50 °C abgedampft.

Rekonstitution des Abdampfrückstandes: Der Abdampfrückstand wurde mit 200 µl HPLC-Eluent aus 0,4 % (v/v) Triethylamin-Phosphorsäure-Puffer pH 2,5 / Acetonitril (72:28 v/v) im Reax 2000 intensiv gemischt.

Aufbewahrung: Bis zur HPLC-Analyse wurden die Proben einen Tag im Kühlschrank aufbewahrt.

3.2.7.2 Probenvorbereitung und Festphasenextraktion für Leber bzw. Lungengewebe

Die Isolierung des Wirkstoffs Doxycyclin aus den Gewebeproben erfolgte durch Festphasenextraktion an Bond-Elut-C18-Säulen (200 mg, 3 ml) nach folgendem Schema:

Gewebeextraktion

In Zentrifugengläser mit Schliffstopfen wurden ca. 500 mg Gewebe (zwischen 480 und 520 mg, ohne Fett und Bindegewebe) eingewogen. 2000 µl Pufferlösung (Bernsteinsäure-Natriumsalz, 0,1 mol/l, pH 4,0) wurden zugegeben und 5 Minuten stehen gelassen.

Mittels Ultra-Turrax (Rührstab 3-10 ml, 2 x 20 s) wurde die Probe unter Eiskühlung homogenisiert. Reste am Turrax-Stab wurden mit 500 µl der oben genannten Pufferlösung in das Zentrifugenglas hinein gespült.

Bei den Proben zur Kalibrierung wurden jeweils 100 µl von Doxycyclin-Zusatzlösungen zu den Homogenaten unbehandelter Organproben in den Konzentrationen von 2,5 bis 10 µg/g für Leber- und 1,25 bis 5 mg/g für Lungengewebe zugegeben, am Vortex gut gemischt und 10 min stehen gelassen. Die Proben und Proben zur Kalibrierung wurden unter Nachspülen von 4,0 ml Methanol in Zentrifugenröhrchen für die Biofuge überführt, dann nochmals vorsichtig am Vortex gerüttelt und anschließend für 10 min ins Ultraschall-Bad gestellt.

Die Proben wurden in der Biofuge (13994 x g, 4 °C) für 10 min zentrifugiert.

3.2 Untersuchungen zu Plasma- und Gewebespiegeln von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation

5000 µl Überstand wurden in ein Reagenzglas abpipettiert und 50 µl Demeclocyclin-Lösung als interner Standard (25 µg/ml) zugegeben.

Die Extrakte in den Reagenzgläsern im Abdampfblock bei 50 °C auf 2,0 ml eingengt, dann abgekühlt und am Vortex gerüttelt.

2,0 ml dieser Extrakte wurden in 2 ml – Eppendorfgefäße überführt und diese bei 14000 U/min in einer Eppendorf-Tischzentrifuge für 5 min zentrifugiert. Der klare Überstand aus den Eppendorfgefäßen wurde auf Bond-Elut-C18-Extraktionssäulen aufgegeben.

Konditionieren der Extraktionssäulen: Durch die Extraktionssäulen wurde 3 ml Methanol, dann 3 ml Phosphat-Citrat-Puffer; 0,2 mol/l, pH 4,0 geleitet.

Probenaufgabe: 1700 µl Überstand der Gewebeextraktion wurde auf die Säulen aufgegeben.

Waschen: Anschließend wurden die Säulen mit 2000 µl Phosphat-Citrat-Puffer, 0,05 mol/l, pH 4,0 gewaschen.

Elution: Mit 1500 µl eines Gemisches aus Methanol und Phosphorsäure 0,2 mol/l (9 Teile + 1 Teil) wurde das adsorbierte Doxycyclin eluiert.

Einengen: Das Eluat wurde in einem Probenkonzentrierungsblock bei 50°C unter Begasung mit Stickstoff zur Trockene eingengt.

Rekonstitution: Der Überstand wurde durch Rütteln am Vortex in 200 µl HPLC-Eluent (Zusammensetzung siehe 3.2.7.3) rekonstituiert.

Aufbewahrung: Bis zur HPLC-Analyse wurden die Proben bis zu 1-2 Tage bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt.

Alle Probelösungen wurden nach Überführung in die Autosampler-Vials 5 Minuten bei 10000 U/min zentrifugiert.

3.2.7.3 HPLC-Analyse

Als mobile Phase diente ein Gemisch aus 0,4 % (v/v) Triethylamin-Phosphorsäure-Puffer pH 2,5 / Acetonitril (72:28 v/v). Der Eluent wurde vor dem HPLC-Einsatz durch einen Membranfilter mit 0,22 µm Maschenbreite filtriert und anschließend 10 min im Ultraschallbad entgast. Die isokratische chromatographische Trennung erfolgte bei Raumtemperatur (23-26 °C) über eine RP 18-Säule (250 x 4 mm) mit einer Vorsäule aus gleichem Material. Die Fließgeschwindigkeit betrug 0,7 ml/min, das Injektionsvolumen 30 µl für Plasmaproben und 80 µl für Organproben. Die Detektion erfolgte im UV-Detektor bei 350 nm.

3.2.7.4 Auswertung der Chromatogramme

Doxycyclin wurde nach dem Verfahren der internen Standardisierung quantifiziert. Als interner Standard IS diente Demeclocyclin, das vor der Aufarbeitung jeder Probe zugesetzt wurde (siehe

1.2.7.1). Wie bereits von DE LEENHEER und NELIS (1979) beschrieben, ist Demeclocyclin sowohl aufgrund seiner chemischen Strukturverwandtschaft, als auch wegen seines ähnlichen Elutionsverhaltens bei saurem pH-Wert besonders gut als interner Standard geeignet. Die Peakfläche des internen Standards spiegelt die arbeitstechnisch unvermeidbaren Schwankungen der Probenaufarbeitung wider. Unter der Annahme, dass sich methodische Schwankungen gleichermaßen auf den internen Standard wie auf den Analyten auswirken, kann die Konzentration des Analyten berechnet werden.

Die Chromatogramm-Auswertung erfolgt mit Hilfe der HPLC-Manager-Software D7000 (Hitachi/Merck, Darmstadt) durch Peakflächenintegration nach der Methode der Internen-Standard-Kalibrierung. Dabei wird eine Gerade durch (ungewichtete) lineare Regressionsrechnung ermittelt. Die Steigung der Gerade m erhält man durch Auftragung der Quotienten für die resultierenden Peakflächen von Doxycyclin und Demeclocyclin über den zugesetzten Doxycyclin-Konzentrationen zu den jeweiligen Kontroll-Plasmaproben.

Dividiert man den Flächenquotient der Probe durch die Steigung, so erhält man als Doxycyclin-Konzentration in der Probe.

Die Standardkurve zur Kalibrierung bestand aus 8 Einzelwerten im Bereich von 0,2 $\mu\text{mol/l}$ bis 4,8 $\mu\text{mol/l}$ Doxycyclin. Pro Messtag wurden mindestens 3 Plasmareferenzproben mit definierter Doxycyclinkonzentrationen mit analysiert.

3.2.7.5 Validierung der HPLC-Analytik von Doxycyclin

Identifizierung

Die Identifizierung von Doxycyclin erfolgte anhand der Retentionszeiten bei dem Absorptionsmaximum von Tetracyclinen von 350 nm bei UV-Detektion der jeweiligen Peaks der Proben im Vergleich zu den Peaks von wässrigen Doxycyclinlösungen.

Spezifität

Die Spezifität der Doxycyclin-Bestimmung wurde gesichert durch vorgeschaltete Aufreinigung der Doxycyclin-Base von störenden Komponenten im Plasma bzw. den Organextrakten mittels Festphasen-Extraktion (Methodenentwicklung Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig, modifiziert nach dem Verfahren von Sheridan & Clarke, 1988).

In Abbildung 3-6 werden repräsentative Chromatogramme der HPLC-Analyse von Plasmaproben vor und nach Doxycyclin-Applikation an die Versuchstiere sowie von mit Doxycyclin dotierten Plasmaproben unbehandelter Tiere für die Kalibrierung gezeigt. Alle Proben wurden zusätzlich mit Demeclocyclin als internem Standard versetzt.

3.2 Untersuchungen zu Plasma- und Gewebespiegeln von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation

Es lagen stabile, identische Retentionszeiten sowohl für die Doxycyclin-Peaks in den damit dotierten Plasmaproben, als auch in den Plasmaproben nach Doxycyclin-Applikation vor. Die Retentionszeiten von Demeclocyclin und Doxycyclin betrugen durchschnittlich 5,0 und 7,4 Minuten. Die Peaks waren bei allen Konzentrationen basisliniengetreunt, symmetrisch und nicht von fremden Peaks überlagert.

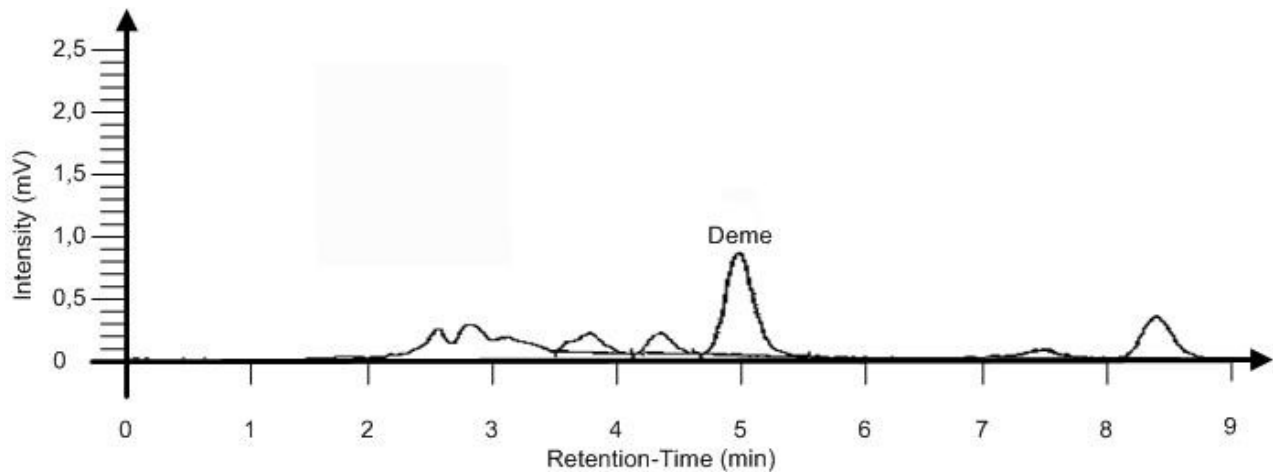


Abbildung 3: Plasmaprobe Brieftaube, unmittelbar vor der intraingluvialen Doxycyclin-Applikation, versetzt mit dem internen Standard Demeclocyclin (0,8 µg/ml)

Demeclocyclin = Deme (Retentionszeit 5,0 min)

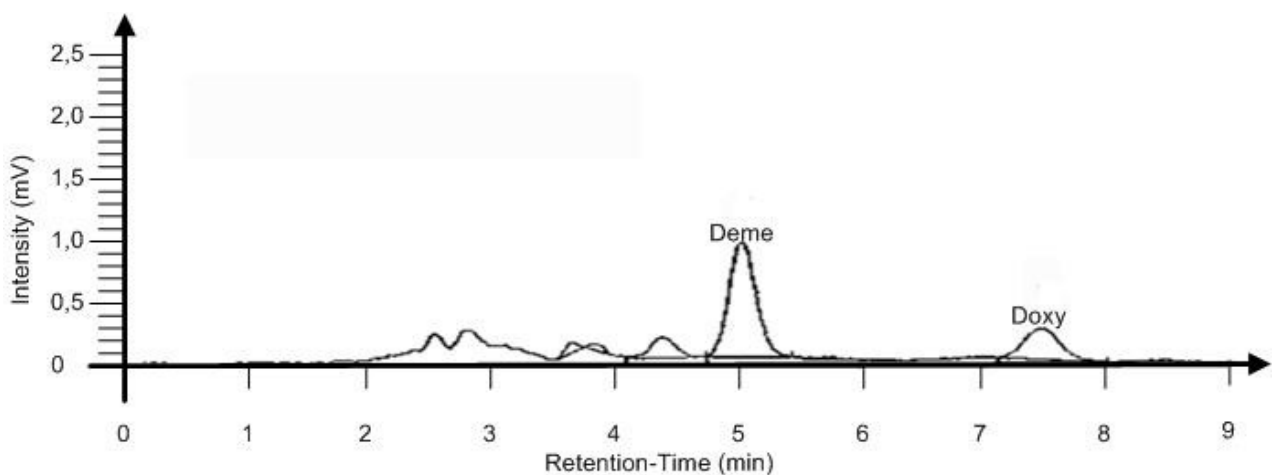


Abbildung 4: Kontrollplasma-Probe Brieftaube, aufgestockt mit 0,2 µg/ml Doxycyclin sowie Internem Standard Demeclocyclin (0,8 µg/ml)

Demeclocyclin = Deme (Retentionszeit 5,0 min); Doxycyclin = Doxy (Retentionszeit 7,4 min)

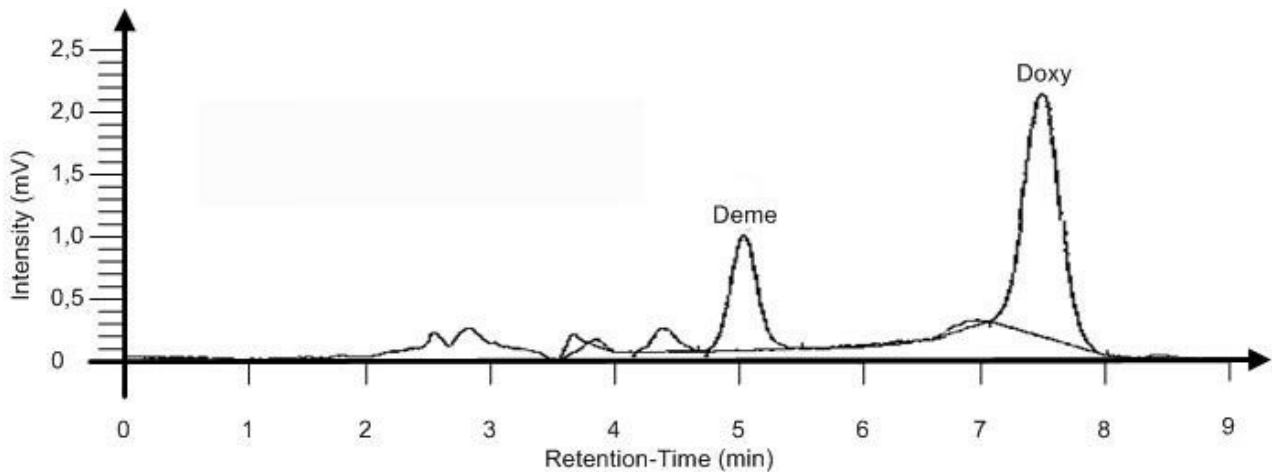


Abbildung 5: Kontrollplasma-Probe Brieftaube, aufgestockt mit 2,4 µg/ml Doxycyclin sowie Internem Standard Demeclocyclin (0,8 µg/ml)

Demeclocyclin = Deme (Retentionszeit 5,0 min); Doxycyclin = Doxy (Retentionszeit 7,4 min)

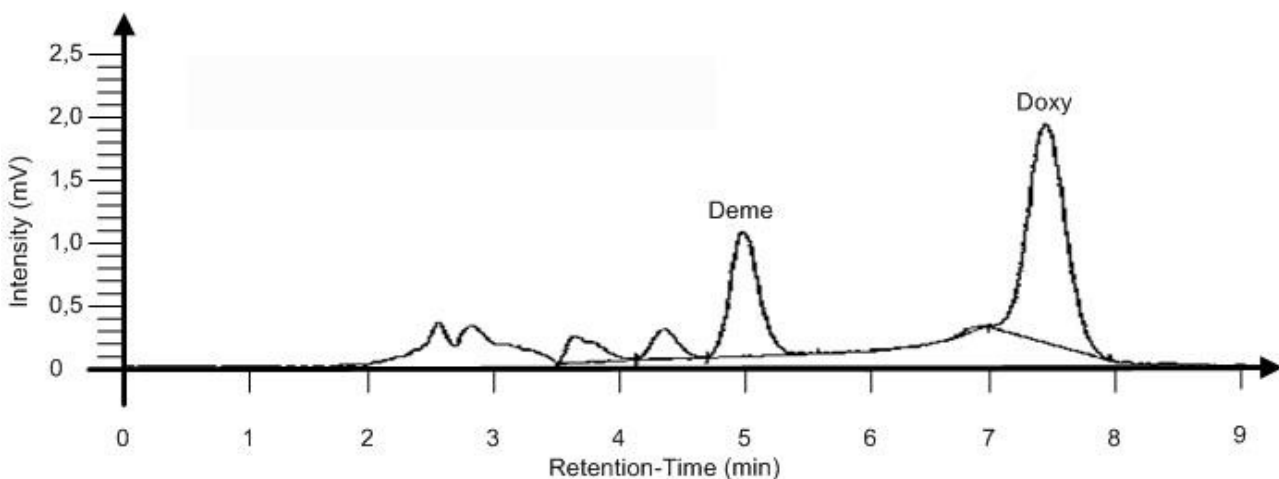


Abbildung 6: Plasmaprobe Brieftaube, 2 h nach intraingulärer Applikation von Doxycyclin der Dosis 15 mg/kg KM (Doxycyclin-Konzentration 1,9 µg/ml)

Demeclocyclin = Deme (Retentionszeit 5,0 min); Doxycyclin = Doxy (Retentionszeit 7,4 min)

Empfindlichkeit

In unbehandelten Plasmaproben von Brieftauben wurde nach Aufarbeitung gemäß vorliegender Analysenvorschrift regelmäßig ein sehr kleiner Störpeak mit der Retentionszeit von Doxycyclin beobachtet, der auch durch Methodenmodifizierung nicht eliminiert werden konnte. Die Fläche dieses Peaks entsprach einer durchschnittlichen Doxycyclin-Konzentration von 0,01-0,02 µg/ml. Als Nachweisgrenze der Doxycyclin-Analytik im Taubenplasma wurden deshalb 0,05 µg/ml (entsprechend 300 % dieses Wertes) und die Bestimmungsgrenze mit dem doppelten Wert von 0,10 µg/ml festgelegt. Diese Nachweis- und Bestimmungsgrenze sind für die Zielstellung vorliegender Studie zum Nachweis von Plasmaspiegeln > 1,0 µg/ml ausreichend sensitiv.

3.2 Untersuchungen zu Plasma- und Gewebespiegeln von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation

Kalibrierung und Linearität

Die Kalibrierung für die Konzentrationsbestimmung im Plasma erfolgte täglich anhand von Kurven, die durch Injektion von mit Doxycyclin gespikten Kontrollplasma-Proben unterschiedlicher Konzentrationen erstellt werden. Folgende Konzentrationen wurden dafür zugesetzt: 0,2; 0,4; 0,8; 1,2; 1,8; 2,4; 3,6 und 4,8 µg/ml.

Diese Plasmareferenzproben wurden vorher in gleicher Weise wie die Analysenproben dem Festphasen-Extraktionsschritt unterworfen und ebenso mit Demeclocyclin als internem Standard versetzt.

Die Kalibrierung für die Konzentrationsbestimmung der Doxycyclin-Gehalte in den Organproben erfolgte durch Mitführung von mit Doxycyclin dotierten Organproben zu jeder Analysenserie. Dabei wurden durch Zugabe von Doxycyclin-Zusatzlösungen zu Homogenaten von unbehandelten Organproben Konzentrationen von 2,5 bis 10 µg/g für Leber- und 1,25 bis 5 µg/g für Lungengewebe hergestellt. Zusätzlich werden sowohl diese Referenzproben als auch alle Analysenproben mit einem Zusatz des Internen Standards IS Demeclocyclin versetzt.

Eine zugehörige repräsentative Kurve für die Kalibrierung für den Konzentrationsbereich bis 4,8 µg/ml ist in Abbildung 7 wiedergegeben; dabei wurden Korrelationskoeffizienten R^2 von $> 0,99$ erhalten. Die Korrelationskoeffizienten der an anderen Analysetagen aufgenommenen Kurven für die Kalibrierung wiesen ebenfalls Werte $> 0,99$ auf. Es bestand somit Linearität in dem zu erwartenden Konzentrationsbereich (bis mindestens 4,8 µg/ml) für Doxycyclin-Plasmagehalte nach oraler Applikation.

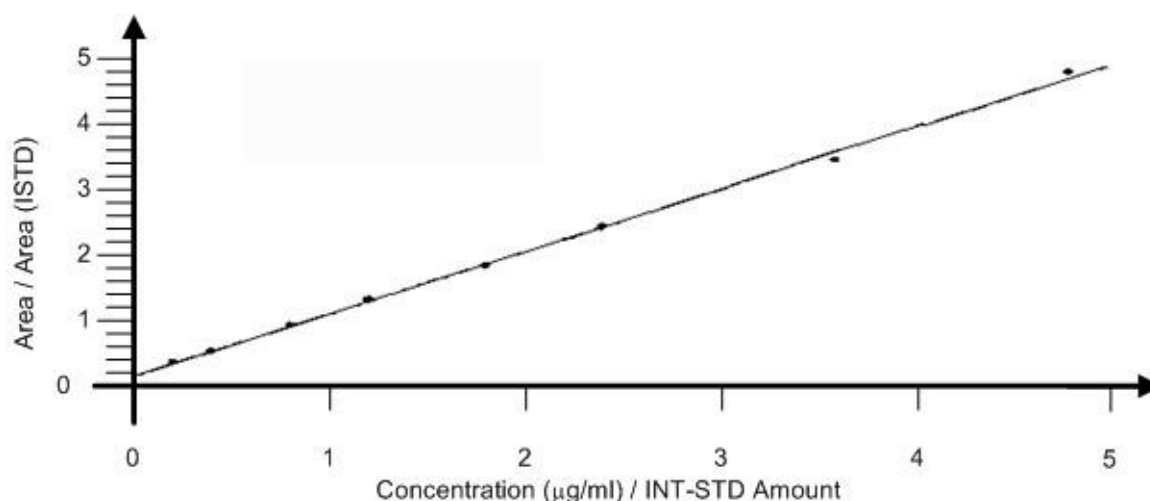


Abbildung 7: Repräsentative Kurve für die Kalibrierung der Bestimmung der Doxycyclinkonzentration im Plasma

RT = 7,44 min; $R^2 = 0,9981$; $A_0 = -1,055e-001$; $A_1 = 8,857e-001$; $A_2 = ,000e-000$; $A_3 = 0,000e-000$

Haltbarkeit

Stammlösungen von Doxycyclin bzw. Demeclocyclin (in Methanol) waren bei Aufbewahrung im Kühlschrank (4 °C) über 4 bzw. 2 Wochen stabil. Für die HPLC-Analyse aufgearbeitete Plasmaproben waren über mindestens 2 Tage bei Kühlschrank-Aufbewahrung (4 °C) stabil. Die HPLC-Analyse erfolgte stets innerhalb von 2 Tagen nach der Festphasenextraktion.

Plasmaproben von mit Doxycyclin behandelten Tieren wurden noch am Entnahmetag bei -70 °C im Tiefkühlfach eingefroren und bis zur HPLC-Analyse längstens 3 Monate gelagert.

Durch mehrfach wiederholte Analyse von mit Doxycyclin dotierten Plasma-Eichproben (Konzentrationen zwischen 0,2 bis 4 µg/ml), die ebenfalls eingefroren bei -70 °C gelagert worden waren, konnte abgesichert werden, dass über diesen Zeitraum hinweg keine systematische Konzentrationsabnahme stattfand. Die Kalibrierung erfolgte dabei gegen frisch hergestellte Doxycyclin-Standardverdünnungen.

3.2.8 Pharmakokinetische Auswertung

Die pharmakokinetische Auswertung des gemittelten Konzentrations-Zeit-Verlaufs von Doxycyclin im Plasma erfolgte auf der Grundlage des Pharmakokinetik-Rechenprogrammes TopFit 2.0 (HEINZEL et al. 1993). Die unter Verwendung der Nicht-Kompartiment-Analyse berechneten Parameter sind wie folgt definiert:

C_{\max} [µg/ml]	=	maximale Plasmakonzentration von Doxycyclin (beobachteter Wert)
T_{\max} [h]	=	Zeitpunkt von C_{\max} (beobachteter Wert)
$t_{1/2}$ [h]	=	Eliminationshalbwertszeit, berechnet aus dem terminalen Abfall λ_z der halblogarithmischen Konzentrations-Zeit-Kurve nach der Gleichung $t_{1/2} = \ln 2 / \lambda_z$
λ_z [h ⁻¹]	=	terminale Eliminationskonstante
$AUC_{0-\infty}$ [µg·h/ml]	=	Fläche unter der Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve vom Zeitpunkt 0 bis ∞ , ermittelt nach der Trapezregel
$MRT_{0-\infty}$ [h]	=	totale Mittlere Verweilzeit

3.2.9 Geräte, Materialien, Chemikalien

- Festphasen-Extraktionseinheit Vacmaster (International Sorbent Technologies, Hengoed, Großbritannien)
- Eppendorf-Pipetten
- N₂-Trockentemperierer: TCS-Trockentemperier-Systeme (Labor Technik Barkey, Bielefeld)
- Reinstwasseranlage, MilliQPlus® (Millipore, Eschborn)

3.2 Untersuchungen zu Plasma- und Gewebespiegeln von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation

- Schüttelgerät Reax 2000 (Heidolph, Schwabach)
- Ultraschallbad Sonorex Super 10P (Bandelin, Berlin)
- Ultra-Turrax T 25 (Janke & Kunkel GmbH & Co.KG, IKA Labortechnik, Staufen i. Br.)
- Vortex Genie 2 tm G560E (Scientific Industries Inc., New York, U.S.A.)
- Zentrifuge Biofuge 28RS (Heraeus, Osterode)
- Zentrifugen Typ 5403 und 5415C (Gerätebau Eppendorf GmbH, Engelsdorf)
- Entgaser (Degasser) (Hitachi, Tokyo)
- HPLC-Gerätesystem LiChrograph (Merck, Darmstadt)
Autosampler, 50 bzw. 80 µl Injektionsvolumen (Plasma bzw. Organe): AS-2000A, Detektor: UV-Detektor L-4250, Interface D-6000, Pumpe: Pumpe L-6200A
- Steuerungs- und Auswertungs-Software: HPLC-System Manager D7000, Version 2.1 (Hitachi/Merck, Darmstadt)
- Membranfilter 0,22 µm (Schleicher & Schuell, Dassel)
- Vorsäulen: Purospher 100 RP-18e (5 µm), 4 x 4 mm (Merck, Darmstadt)
- Säulen: Purospher 100 RP-18e (5 µm), 250 x 4 mm (Merck, Darmstadt)
- Acetonitril, LiChrosolv für Gradientenanalyse (Merck, Darmstadt)
- Bernsteinsäure zur Analyse (Laborchemie Apolda, Apolda)
- Zitronensäure-Monohydrat > 99,5% p.a. (Carl Roth, Karlsruhe)
- Demeclocycline Hydrochloride, Lot No 39H0453 (Sigma-Aldrich Chemie, Diesenhofen)
- Doxycycline Hyclate CRS, Referenzsubstanz Eur. Pharmacopoeia – Lot No 3c (Promochem, Wesel)
- Extraktionssäulen Bond Elut C18/100 mg und C18/200 mg (Varian Deutschland, Darmstadt)
- Methanol, LiChrosolv für Gradientenanalyse (Merck, Darmstadt)
- Ortho-Phosphorsäure, 85 % (Merck, Darmstadt)
- Triethylamin, für die Aminosäurenanalyse (Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz)
- Bernsteinsäure-Natriumsalz-Puffer, 0,1 mol/l, pH 4,0
- Phosphat-Citrat Puffer, 0,05 mol/l, pH 4,0
- Phosphat-Citrat Puffer nach McIlvaine, 0,2 mol/l, pH 4,0
- Triethylamin-Phosphorsäure-Puffer, 0,4 Vol% für Eluenten: 4,0 ml Triethylamin werden in 1000 ml wässriger Lösung (Reinstwasser) durch Zusatz von konz. H₃PO₄ auf einen pH-Wert von 2,5 eingestellt
- Doxycyclinhyclat 5,8 mg/ 10 ml Methanol, entspricht 500 µg/ml freier Base
- Demeclocyclin HCL 5,0 mg/ 10 ml Methanol, entspricht 500 µg/ ml

3.3 Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation im kontrollierten klinischen Test

3.3.1 Test-und Kontrollsubstanzen

Mit der Herstellung der pulverförmigen Testsubstanzen wurde die WDT (Wirtschaftsgenossenschaft der Deutschen Tierärzte, Siemensstraße 14, 30827 Hannover-Garbsen) beauftragt. Für diese Substanz erstellte die WDT ein Analysenzertifikat.

Testsubstanzen

Die Testsubstanzen wiesen folgende Zusammensetzung auf:

Doxycyclin-Präparat mit 12 % Doxycyclingehalt (= 13,85 % Doxycyclinhyclat):

Wirkstoff: 69,250 g Doxycyclinhyclat

Hilfsstoffe: 430,750 g Dextrose-Laktose Farbstoffmischung

Doxycyclin-Präparat mit 18 % Doxycyclingehalt (= 20,78 % Doxycyclinhyclat):

Wirkstoff: 103,875 g Doxycyclinhyclat

Hilfsstoffe: 396,125 g Dextrose-Laktose Farbstoffmischung

Doxycyclin-Präparat mit 24 % Doxycyclingehalt (= 27,7 % Doxycyclinhyclat):

Wirkstoff: 138,500 g Doxycyclinhyclat

Hilfsstoffe: 361,500 Dextrose-Laktose Farbstoffmischung

Kontrollsubstanz

Die Kontrollsubstanz = Placebo setzt sich wie folgt zusammen:

0 g Doxycyclinhyclat

500 g Dextrose-Laktose Farbstoffmischung

Dextrose-Laktose Farbstoffmischung:

Dextrose Monohydrat 895 g, Laktose Monohydrat 895 g, Curcuma Instant Erka Typ 740 194 g, Grün Instant Erka Typ 759 6 g, Siliciumdioxid 10 g.

3.3.2 Studiendesign

Alle Untersuchungen wurden nach den GUIDELINES FOR GOOD CLINICAL PRACTICE (GCP) (2003) unter Berücksichtigung der Anforderungen der Leitlinie EVALUATION OF THE SAFETY OF VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS FOR THE TARGET ANIMALS (1994) durchgeführt.

3.3 Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation im kontrollierten klinischen Test

Es handelte sich um eine kontrollierte klinische Studie (verblindete, randomisierte Parallelgruppen-Studie).

Ziel war es, Erkenntnisse zur oralen Verträglichkeit von Doxycyclin bei der Zieltierart Brieftaube zur Behandlung der Ornithose vorzulegen. Über 20 Tage wurde Brieftauben in fünf unterschiedlichen Dosierungen Doxycyclin oral verabreicht. Durch gleichzeitige Überwachung des Gesundheitszustandes der Tiere und anschließende pathologische Untersuchung sollte geprüft werden, ob klinische Symptome einer Unverträglichkeit mit der oralen Applikation von Doxycyclin auftreten. Durch entsprechende Überdosierung sollte die therapeutische Breite bis zum Fünffachen der therapeutischen Dosis getestet werden.

Die Dosierung von Doxycyclin in mg pro kg Körpermasse (KM) und Tag (d) betrug

in der Placebogruppe 0 mg/kg KM pro Tag,

in der Einfachdosisgruppe (einfache Therapiedosis) 30 mg/kg KM pro Tag,

in der Eineinhalbfachdosisgruppe (1,5fache Therapiedosis) 45 mg/kg KM pro Tag,

in der Doppeldosisgruppe (2fache Therapiedosis) 60 mg/kg KM pro Tag und

in der Fünffachdosisgruppe (5fache Therapiedosis) 150 mg/kg KM pro Tag.

Die Gesamtdosis wurde entsprechend der ermittelten Halbwertszeit von Doxycyclin jeweils auf zwei gleiche Einzeldosen über den Tag verabreicht.

Die Therapiedosis von 30 mg/kg KM wurde in pharmakokinetischen Dosisfindungsstudien siehe Kapitel 3.2.2 und 3.2.3 ermittelt.

Die Therapiedosis wurde aus dem geforderten therapeutischen Blutspiegel von 1,0 µg/ml (PSITTAKOSE-VERORDNUNG 2005; FLAMMER 2000) abgeleitet.

Aufgrund der Ergebnisse von Studien bei Papageienvögeln, welche nach oraler Applikation eine Doxycyclin-Toxikose, in Form einer akuten Hepatitis, Anstieg der LDH- und AST-Werte sowie Anorexie, Gewichtsverlust, Inaktivität, gesträubtes Gefieder, Diarrhoe und gelben Harn zeigten (FLAMMER 2000), wurde zuerst die 2-fache therapeutische Dosis als obere Grenzdosis zur Ermittlung der Verträglichkeit von Doxycyclin herangezogen. Aufgrund einer ausgezeichneten Verträglichkeit von Doxycyclin bei der Zieltierart Brieftaube bei 20-tägiger oraler Applikation und zweifacher Überdosierung, wurde eine weitere Studie an 6 männlichen und 6 weiblichen Brieftauben mit einer 5-fachen Überdosierung durchgeführt.

Der Zeitraum der Applikation wurde auf 20 Tage begrenzt, da Doxycyclin im Vergleich zu Chlortetracyclin eine höhere Wirksamkeit besitzt und für letzteres ein maximaler Applikationszeitraum von 25 Tagen bei der Taube angegeben wird.

3.3.3 Randomisierung

Die 60 Brieftauben wurden nach dem Zufallsprinzip auf fünf Versuchsgruppen (A, B, C, D, E) aufgeteilt, indem eine Randomisierungsliste erstellt wurde. Diese enthielt in zufälliger Reihenfolge in Spalte 1 die Buchstaben „A“, „B“, „C“, „D“ und „E“. Die Zuteilung der Tauben erfolgte durch Listeneintrag der Taubennummern in Spalte 2. Jede Gruppe umfasste insgesamt 12 Tauben (6 männliche und 6 weibliche Tiere).

3.3.4 Verblindung

Das Pulver war so hergestellt und in Dosen abgepackt worden, dass anhand des Füllungsgrades und der Farbe nicht auf die Dosierung geschlossen werden konnte. Um eine Verwechslung bei der Herstellung der zu applizierenden Lösungen auszuschließen, wiesen die Dosen Etiketten mit Schrift in unterschiedlicher Farbe auf:

Dose für Gruppe A: in der Farbe rot

Dose für Gruppe B: in der Farbe blau

Dose für Gruppe C: in der Farbe grün

Dose für Gruppe D: in der Farbe schwarz

Dose für Gruppe E: in der Farbe gelb

Die Zuordnung der Gruppen A, B, C, D und E zu der Verabreichung

1. der Kontrollsubstanz,
 2. der Testsubstanz in der Therapie-Dosis,
 3. der Testsubstanz in der 1,5-fachen Therapie-Dosis und
 4. der Testsubstanz in der 2-fachen Therapie-Dosis
 5. der Testsubstanz in der 5-fachen Therapie-Dosis
- erfolgte durch eine externe Person.

Die Unterlagen zur Auflösung der Verblindung verblieben bis zum Studienende bei dieser externen Person.

3.3.5 Entblindung

Nach Erhebung aller Untersuchungsergebnisse erfolgte die Entblindung der Studie.

Gruppe A war die Kontrollgruppe (Placebo),

Gruppe B die einfache Therapiedosisgruppe 30 mg/kg KM pro Tag

Gruppe C die 1,5-fache Therapiedosisgruppe 45 mg/kg KM pro Tag,

Gruppe D die doppelte Therapiedosisgruppe 60 mg/kg KM pro Tag.

Angefügt wurde Gruppe E, die 5-fache Therapiedosisgruppe 150 mg/kg KM pro Tag.

3.3.6 Herstellung der Applikationslösung

Die geschlossenen Behälter mit dem Doxycyclinpulver wurden in der Tierärztlichen Hausapotheke der Professur für Vogelkrankheiten der Kleintierklinik der Universität Leipzig trocken und kühl gelagert.

Vor der Applikation wurde jeweils die entsprechende Menge Präparat in destilliertem Wasser gelöst. Destilliertes Wasser wurde zur Herstellung der Applikationslösung gewählt um eine Interaktion von Doxycyclin mit di- und trivalenten Kationen zu vermeiden und eine standardisierte Resorption des Präparates zu gewährleisten.

Es wurden jeweils 62,5 mg Testsubstanz, worin 0 mg, 7,5 mg, 11,3 mg oder 15 mg Doxycyclinhydrochlorid enthalten waren, sowie einmal 78,1 mg Testsubstanz, worin 18,8 mg Doxycyclinhydrochlorid enthalten war, pro ml destilliertem Wasser in einem Messkolben gelöst.

Dies entsprach einem Applikationsvolumen von 2 ml/kg KM pro Applikation bei den Gruppen A-D und einem Applikationsvolumen von 4 ml/kg KM bei der Gruppe E. Die Applikationslösung wurde täglich frisch hergestellt und bis zum Gebrauch im Kühlschrank aufbewahrt.

3.3.7 Applikation der Doxycyclinlösungen

Die Applikation erfolgte zweimal täglich, um 8.00 Uhr und um 16.00 Uhr, in den Kropf unter Verwendung einer Knopfsonde. Die Applikation mit der Knopfkanüle war notwendig um unter Versuchsbedingungen eine vollständige Aufnahme der wirksamen Dosis zu gewährleisten.

Bereits während der letzten drei Tage der Akklimatisationsphase wurde zu Trainingszwecken und zur Gewöhnung in einer Phase der Scheinbehandlung mit der Applikation begonnen. Dabei erhielten die Tiere zweimal täglich 2,0 ml Trinkwasser ohne Substanz.

3.3.8 Prüfung der Verträglichkeit durch Überwachung des Gesundheitszustandes

Die Akklimatisationsphase (prä-experimentelle Phase) betrug 7 Tage (Versuchstag -6 bis 0). In dieser Zeit sollten sich die Tiere an die neuen Haltungsbedingungen und an die Knopfsondenapplikation gewöhnen. Es wurden nur Tiere für den experimentellen Teil der Studie verwendet, die nach dieser Zeit frei von klinisch erkennbaren Krankheitssymptomen waren.

Danach begann der experimentelle Teil der Studie (Versuchstag 1 bis 20), der aus der 20-tägigen Verabreichung der Kontroll- bzw. Testsubstanzen bei gleichzeitiger Überwachung des Gesundheitszustandes der Tiere bestand. Es sollte geprüft werden, ob klinische Symptome einer Unverträglichkeit im Zusammenhang mit der oralen Applikation von Doxycyclin auftreten.

Nach Abschluss der Applikationsphase wurden im Hinblick auf mögliche Organschäden in einem post-experimentellen Teil (Versuchstag 21 bis 28) 48 Tiere zu verschiedenen Zeitpunkten

pathologisch-anatomisch und -histologisch untersucht. Bei den jeweils verbleibenden Tieren wurde fortführend der Gesundheitszustand protokolliert.

3.3.8.1 Bestimmung der Körpermasse

Zur Bestimmung der individuellen Körpermasse wurde jede Taube mittels einer handelsüblichen Kleintierwaage am Tag -6, 0, 7, 14 und 20 gewogen.

3.3.8.2 Klinische Untersuchung

Am Tag -6, 0, 7, 14 und 20 wurden morgens alle Tauben klinisch untersucht und die Ergebnisse auf dem entsprechenden Befundbogen festgehalten.

Die klinische Untersuchung erfolgte nach SCOPE (2007a).

Ein als „normal“ bezeichneter Kot war geformt und von grün-brauner Farbe. Um eine Aussage hinsichtlich der Wirksamkeit des zu prüfenden Medikamentes treffen zu können, wurden die Veränderungen gewichtet. Ein grüner oder dunkel – schwarzer, geformter und nicht vermehrter Kot wurde als geringgradig verändert eingestuft. Ebenfalls als geringgradig verändert galt ein Kot, wenn nur die Konsistenz weich war bzw. vermehrt Kot ausgeschieden wurde. Als mittelgradig verändert wurde der Kot gewertet, wenn vermehrt grüner, dunkel-schwarzer oder weicher Kot vorlag. Ebenfalls als mittelgradig verändert wurde ein weicher grüner oder dunkel-schwarzer Kot ausgeschieden wurde. Als hochgradig verändert galt ein Kot, wenn er vermehrt, von weicher Konsistenz und grüne Farbe war.

3.3.8.3 Tierärztliche Adspektion

Die Adspektion im Sinne einer Visite erfolgte jeweils zweimal täglich, d.h. am Tag -6, 0, 7, 14 und 20 nur abends, da bereits morgens eine klinische Untersuchung vorgenommen wurde. Alle Befunde wurden auf den dafür vorgesehenen Bögen dokumentiert.

Die Adspektion erfolgte nach SCOPE (2007a).

3.3.8.4 Tägliche Bestimmung des Futterverbrauches

Täglich wurde der Futterverbrauch jeder Taube bestimmt, indem jedem Tier täglich 80 g Futter angeboten und am nächsten Tag vor erneutem Futterangebot die Restfuttermenge zurück gewogen wurde.

3.3 Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation im kontrollierten klinischen Test

3.3.8.5 Tägliche Bestimmung des Trinkwasserverbrauches

Täglich wurde der Trinkwasserverbrauch jeder Taube bestimmt, indem jedem Tier täglich 100 ml Trinkwasser angeboten und am nächsten Tag vor erneutem Trinkwasserangebot die Resttrinkwassermenge zurück gemessen wurde.

3.3.8.6 Klinisch chemische und hämatologische Blutuntersuchung

Am Tag -6, 10 und 20 wurden von jeder Taube mittels Punktion der Flügelvene ein Tropfen Nativblut und 1,5 ml Heparinblut gewonnen. Aus dem Nativblut wurde ein Differentialblutbild erstellt, aus dem Heparinblut der Hämatokrit bestimmt und der Rest der Probe wurde bei 5400 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und zur Untersuchung klinisch chemischer Parameter in das Labor der Medizinischen Tierklinik der Universität Leipzig gegeben. Dort wurden die Plasmaproben bis zur Untersuchung bei -20°C aufbewahrt.

Klinische Chemie

Es wurden folgende Parameter bei untersucht (Analysentemperatur 37°C):

- 2 Harnsäure [$\mu\text{mol/l}$]
- 3 Creatinkinase [U/l]
- 4 Gamma-Glutamyl-Transferase [U/l]
- 5 Laktatdehydrogenase [U/l]
- 6 Aspartat-Amino-Transferase [U/l]
- 7 Gesamteiweiß [g/l]
- 8 Albumin [g/l]
- 9 Globulin [g/l]

bei der Gruppe mit der 5fachen Therapiedosis zusätzlich (Analysentemperatur 37 °C):

- 1 Gallensäuren [$\mu\text{mol/l}$]
- 2 Cholinesterase [U/l]

Hämatologie

Durch Ausstrich eines Tropfen Nativblutes mit einem geschliffenem Deckgläschen auf einem entfetteten Objektträger, anschließender Lufttrocknung, Färbung mit DiffQuik und Mikroskopie wurde ein Differentialblutbild erstellt. Dafür wurden routinemäßig in der 100-fachen Vergrößerung 100 Leukozyten ausgezählt und die prozentualen Anteile der einzelnen Leukozytenfraktionen bestimmt. Die Gesamtleukozytenzahl in $\times 10^9/\text{l}$ wurde mittels Leukozyten-Schätzmethode grob geschätzt, indem in der 40-fachen Vergrößerung die Leukozytenzahl in 10 Gesichtsfeldern gezählt und mit 200 multipliziert wurde. Aus dem Heparinblut wurde mit einer

Mikrohämatokritzentrifuge zweifach der Hämatokrit bestimmt und daraus der Mittelwert gebildet, angegeben in SI-Einheiten.

3.3.8.7 Pathologisch-anatomische und -histologische Untersuchung

Nach Abschluss der 20-tägigen Applikationsphase wurde ein Teil der Tiere unmittelbar anschließend und ein Teil der Tiere zeitverzögert auf Organveränderungen, die im Zusammenhang mit der Applikation stehen könnten, pathologisch-anatomisch und -histologisch untersucht.

Pathologisch-anatomische Untersuchung

6 Tiere jeder Gruppe wurden am Tag 21, von den verbleibenden 6 Tieren jeder Gruppe wurden je nach aufgetretenen klinischen Nebenwirkungen am Tag 28 3 bis 6, lege artis euthanasiert. Dazu wurden die Tiere mit Ketamin/ Diazepam (40 mg/kg KM/ 5 mg/kg KM i.m.) anästhesiert und nach Erreichen der chirurgischen Toleranz mit einer intravenösen Kaliumchloridinjektion (2 mmol/kg KM) getötet. Durch die Injektion von Kaliumchlorid war eine Tötung ohne die Entstehung von Tötungsartefakten in den Organen möglich.

Es erfolgte eine Sektion mit einer makroskopischen Beurteilung aller Organe und entsprechender Dokumentation.

Je Tier wurden folgende Organe makroskopisch untersucht:

Leber, Niere, Herz, Milz, Bursa fabricii, Knochenmark - Sternum, Femur / Kniegelenk, Gaumen (Rachendach), Larynx, Trachea, Lunge, Ösophagus (proximaler Teil vor dem Kropf), Kropf
Ösophagus (distaler Teil hinter dem Kropf), Drüsenmagen, Muskelmagen, Duodenum, Ileum, Jejunum, Caecum-Rudiment, Hoden, Haut mit Bürzeldrüse, Auge, Großhirn und Kleinhirn mit Stammhirn

Zusätzlich wurde das Organgewicht von Leber, Niere, Herz und Milz bestimmt.

Alle entnommenen Organe und alle Teile veränderter Organe oder Gewebe wurden in 4 %iges Formalin eingelegt.

Histologische Untersuchung

Je Tier wurden folgende Organe histologisch untersucht:

Leber, Niere, Herz, Milz, Lunge, Kropf, Drüsenmagen, Duodenum

Zusätzlich wurden alle pathologisch veränderten Organe und Gewebe histopathologisch untersucht.

Anfertigung der Gewebeschnitte

Von allen oben genannten Organen wurden Gewebeschnitte und eine HE-Färbung angefertigt.

3.3 Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation im kontrollierten klinischen Test

3.3.9 Geräte, Materialien, Chemikalien

- BBL Crystal™ E/NF (Becton, Dickinson and Company, Sparks, Maryland, U.S.A.)
- Feinwaage Adventurer™ (Ohaus, Giessen)
- Hitachi 912 Analysengerät für klinisch-chemische Blutparameter (Rosch Diagnostik GmbH, Mannheim)
- Menzel Gläser: Deckgläser, Objektträger geschnitten (Menzel GmbH + CoKG, Braunschweig)
- Metallknopfsonden (Chris Walther Veterinärinstrumente, Rietzneuendorf)
- Mikroskop OLYMPUS BX41TF (Olympus Optical, Tokyo, Japan)
- Mikroskop OLYMPUS CX21FS1 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan)
- Nährböden: Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar, Columbia-Agar mit Schafblut, Sabouraud-Glucose-Agar, Selenit-Lactose-Bouillon (Oxoid GmbH, Wesel)
- Neoject® Einmal-Kanülen Nr.16, 23G (Dispomed Witt oHG, Gelnhausen)
- Probengefäße: 1,3 ml LH, 1,3 ml Serum (Sarstedt, Nümbrecht)
- Reinstwasseranlage, MilliQ_{Plus}® (Millipore, Eschborn)
- Salmonella Typhimurium-OH-Testantigen (1,4,5,12:i:1,2) (SIFIN Institut für Immunpräparate und Nährmedien GmbH, Berlin)
- Starres Endoskop T140-2730, 30 °, 2,7 mm, 19 cm mit 150 Halogen E 5/2 Licht (Dr. Fritz, Tuttlingen)
- Wattestäbchen 15 cm (Albrecht, Aulendorf)
- Waage KERN TB35K1 (Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern)
- Zentrifuge EBA 8S (Hettich Zentrifugen, Tuttlingen)
- Zentrifuge HAEMATOKRIT 24 (Hettich Zentrifugen, Tuttlingen)
- 1M-Kaliumchlorid-Lösung Delta Select 7,46 % (Delta Select, Dreieich)
- Diff-Quik® (Dade Behring, Marburg)
- Faustan® 5 mg/ml (Temmler Pharma, Marburg)
- Natriumfluorid 500 g auf 1 l Wasser (90 °C) (REWE Handelsgruppe GmbH, Köln)
- Isotonische Natriumchlorid-Lösung Delta Select (Delta Select, Dreieich)
- Ketamin 100® (Pharmanovo GmbH, Hannover)

3.4 Tierschutz

Zur Gewährleistung des Tierschutzes wurde vor Versuchsbeginn festgelegt, dass Brieftauben, die im Versuchszeitraum klinisch erkranken, aus ethischen und tierschützerischen Gründen nach Rücksprache mit dem Monitor aus dem Versuch ausgeschlossen, artgerecht getötet und pathologisch-anatomisch sowie histologisch untersucht werden sollten.

Sollten klinische oder pathologische Befunde auf Nebenwirkungen der Behandlung zurückzuführen sein, hätte in Abhängigkeit von der Schwere ein Abbruch des Versuchs erfolgen können.

Aus Tierschutzaspekten wurden bei der Untersuchung der Verträglichkeit von Doxycyclin bei 20-tägiger oraler Applikation am Versuchstag 28 nur 3 Tiere je Gruppe der Gruppen A-D anstatt von 6 Tieren pathologisch-anatomisch untersucht, da sowohl klinisch wie auch bei den pathologisch-anatomisch untersuchten Tieren keinerlei Veränderungen aufgetreten waren und somit diese auch bei den verbleibenden Tieren nicht zu erwarten waren. 12 Tiere lebten ohne Beeinträchtigung des Wohlbefindens weiter. In Gruppe E hingegen wurden alle 6 verbleibenden Tiere untersucht.

3.5 Statistische Auswertung

Aufgrund der anatomisch-physiologischen Gegebenheiten bei Brieftauben (Körpergewicht, Blutvolumen) konnte in den Untersuchungen dieser Studie nicht die bei größeren Spezies übliche Verfahrensweise der Verfolgung des vollständigen Plasmaspiegel-Zeitverlaufs laut Versuchsdesign an jedem Einzeltier mit anschließender statistischer Berechnung der Mittelwerte MW und Standardabweichungen SD für die jeweiligen Zeitpunkte (die immer dasselbe Tierkollektiv beinhalten) herangezogen werden. Von jeder Taube konnten pro Tag jeweils nur 2 Blutproben durch Punktion der Flügelvene gewonnen werden, und bei Verlaufsuntersuchungen über mehrere Tage war frühestens nach 48 h eine erneute Venenpunktion möglich.

Dadurch liegen für die jeweiligen Messzeitpunkte zwar mehrere Einzelwerte, aber von unterschiedlichen Tieren vor.

Die Berechnung der pharmakokinetischen Parameter erfolgte auf Grundlage eines auf diese Weise erhaltenen mittleren Plasmaspiegel-Zeitverlaufs für alle Tiere des jeweiligen Versuchs; eine Standardabweichung kann dafür nicht angegeben werden.

Der Versuch zur Plasmakinetik von Doxycyclin bei 14-tägiger oraler Applikation und der Versuch zur Trinkwassermedikation mit 750 mg/l Doxycyclin (über 10 Tage) wurde statistisch im Hinblick auf die Mittelwerte und die zugehörigen Standardabweichungen zu den gewählten Untersuchungszeitpunkten ausgewertet. Dabei standen jeweils Plasmaspiegel von 8 bzw. 9 (unterschiedlichen) Brieftauben zur Verfügung.

Entsprechend wurde auch der Versuch zur Ermittlung der Gewebespiegel in Leber und Lunge mit Doxycyclin-Gewebespiegeln von jeweils 6 Brieftauben ausgewertet.

Im Vorversuch zur Trinkwasserapplikation von Doxycyclin bei Brieftauben wurde nur jeweils der Mittelwert aus den Blutproben von zwei Brieftauben berechnet.

Die biostatistische Auswertungen bei der Untersuchung der Verträglichkeit von Doxycyclin bei 20-tägiger oraler Applikation wurden mit dem Statistical Package for the Social Sciences SPSS Version 11.5 (SPSS- Software GmbH München) durchgeführt.

3.5 Statistische Auswertung

Die Prüfung auf Normalverteilung erfolgte mit dem Shapiro-Wilk-Test.

Für die deskriptive Statistik wurde der Mittelwert und die Standardabweichung für alle Parameter zu den Untersuchungstagen für die Gruppen berechnet. Für die nichtnormalverteilten Parameter (signifikanter Shapiro-Wilk-Test bei Basophile, Eosinophile, Monozyten, GGT, LDH) wurden zusätzlich der Medianwert und das 1. und 3. Quartil errechnet.

Die Signifikanzprüfung zwischen den 5 Gruppen erfolgte mit der Varianzanalyse und post hoc mit dem Duncan-Test.

Bei der klinischen Chemie erfolgten Gruppenvergleiche mit dem parameterfreien Kruskal-Wallis-Test und U-Test nach Mann-Whitney.

Die Prüfung auf signifikante Veränderungen der Parameter innerhalb des Messzeitraumes der Gruppen erfolgte mit Varianzanalyse mit Messwiederholung und dem gepaarten t-Test. Bei Nichtnormalverteilung erfolgte diese Berechnungen für Basophile, Eosinophile, Monozyten, GGT, LDH mit dem Friedman- bzw. Wilcoxon - Test.

Die Häufigkeiten der Abweichungen von den Normalbefunden in den Gruppen wurde mittels Kreuztabellen und dem χ^2 -Test nach Pearson auf Signifikanz geprüft.

Unterschiede ab einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,05$ wurden für signifikant befunden.

4 Ergebnisse

Der Gesundheitszustand der Versuchstiere wurde während der Untersuchungen zur Plasmakinetik von Doxycyclin nach oraler Verabreichung wie in Kapitel 3.1 beschrieben überwacht. Die Brieftauben waren vor, während und nach den Versuchen frei von klinisch erkennbaren Krankheitssymptomen.

4.1 Ergebnisse zu den Untersuchungen zu Plasma- und Gewebespiegeln von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation

4.1.1 Plasmakinetik nach einmaliger oraler Doxycyclinapplikation von 60 mg/kg KM

In Abbildung 8 wird der Plasma-Konzentrations-Zeit-Verlauf (Mittelwerte aus 3 bis 6 Einzelwerten pro Zeitpunkt) für 15 Brieftauben nach intraingluvialer Applikation von Doxycyclin-Hyclat-Lösung in der jeweiligen Einzeldosis von 60 mg/kg KM (berechnet als Doxycyclin-Base) dargestellt. Die zugrunde liegenden Daten sind im Anhang, in der Tabelle A.1, zusammengefasst.

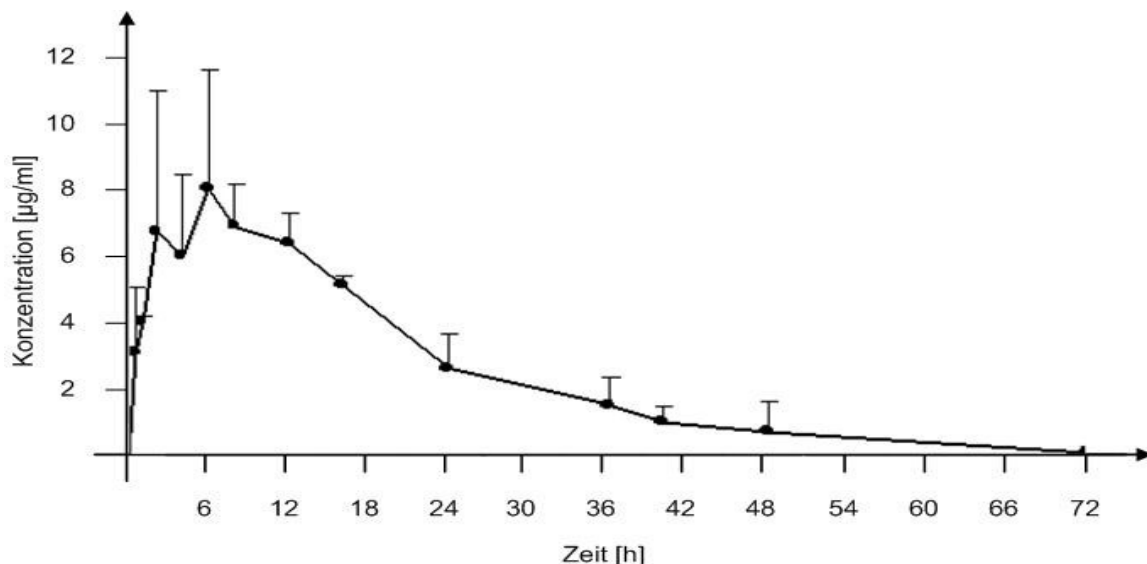


Abbildung 8: Plasma-Konzentrations-Zeit-Verlauf (Mittelwerte + Standardabweichung) von Doxycyclin nach einmaliger intraingluvialer Applikation von Doxycyclin-Lösung (Dosis: 60 mg/kg KM) an Brieftauben; n = 3-6 Tauben pro Zeitpunkt

Anschließend an die per Knopfsonde durchgeführte Applikation direkt in den Kropf der vorher gefasteten Tauben erfolgte eine sehr schnelle Wirkstoffresorption, so dass zum ersten Blutentnahmezeitpunkt 30 min post applicationem (post appl.) bereits ein Plasmaspiegel-Mittelwert von 3,2 µg/ml erreicht war. Der weitere Verlauf war durch eine Plateauphase relativ hoher Plasmagehalte von 6 bis 7 µg/ml im Zeitraum von 2 bis 12 h post appl. gekennzeichnet. Ein (sekundärer) Maximalspiegel von 8,1 µg/ml (Mittelwert) resultierte nach 6 h. Die Elimination verlief relativ langsam, wodurch zum letzten Probenentnahmezeitpunkt 72 h post appl. noch ein

4.1 Ergebnisse zu den Untersuchungen zu Plasma- und Gewebespiegeln von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation

Plasmaspiegel-Mittelwert von 0,15 µg/ml, nahe der Bestimmungsgrenze von 0,10 µg/ml, nachgewiesen werden konnte.

Es konnte somit gezeigt werden, dass nach oraler Aufnahme eine genügende Resorption von Doxycyclin im Magendarmtrakt von Brieftauben stattfindet.

Die stark streuenden Werte im Anfangsteil des Kurvenverlaufs sind vermutlich durch individuelle Schwankungen bei der Resorption begründet; außerdem standen nur 3 Messwerte pro Zeitpunkt zur Verfügung. Zur Absicherung der Berechnung der Eliminationshalbwertszeit wurden zu späteren Probeentnahmezeitpunkten, 36 h bis 72 h post applicationem, in der Eliminationsphase zusätzlich Blutproben entnommen und analysiert, so dass mit 4 bis 6 Einzelwerten pro Zeitpunkt geringere Streuungen resultierten.

Durch Nicht-Kompartiment-Analyse wurden die pharmakokinetischen Parameter für Doxycyclin aus den Mittelwerten verschiedener Brieftauben zu den jeweiligen Probenahmezeitpunkten nach der einmaligen oralen Applikation berechnet. Eine Zusammenstellung dieser pharmakokinetischen Parameter zeigte Tabelle 2.

Tabelle 2: Pharmakokinetische Parameter von Doxycyclin nach intraingluvialer Applikation von Doxycyclin-Lösung an Brieftauben in einer Einzeldosis von 60 mg/kg KM

Parameter	Maßeinheit	einmalige Applikation von 60 mg/kg
C_{\max}	[µg/ml]	8,1
T_{\max}	[h]	6,0
λ_z	[h ⁻¹]	0,0615
$t_{1/2}$	[h]	11,3
$AUC_{0-\infty}$	[µg·h/ml]	184,1
$MRT_{0-\infty}$	[h]	18,8

C_{\max} und T_{\max} stellen beobachtete Werte dar. Die Eliminationshalbwertszeit von 11 h war relativ lang und offensichtlich zusätzlich durch die langanhaltende Resorptionsphase überlagert. Diese lange Eliminationshalbwertszeit sowie die Mean residence time (MRT) von ungefähr 19 h spiegelten die verzögerte Elimination von Doxycyclin wieder.

4.1.2 Plasmakinetik von Doxycyclin bei 14 tägiger oraler Applikation von 30 mg/kg KM pro Tag

In der Abbildung 9 sind die während der zweiwöchigen intraingluvialen Applikation an den ausgewählten Untersuchungstagen 2, 7 und 13 gemessenen Doxycyclin-Plasmaspiegel dargestellt. Dabei wurden entsprechend der täglich zweimal erfolgten Wirkstoff-Applikation als Probenahmezeitpunkte die jeweils zwei Zeitpunkte der Maximalgehalte (Peak-Werte, bestimmt 2 Stunden post appl.) sowie diejenigen der Minimalgehalte (Trough-Werte, bestimmt jeweils 1 Stunde vor der nächsten Applikation) ausgewählt.

In Tabellen A.2, A.3 und A.4 des Anhangs sind die Einzelwerte der gemessenen Plasmaspiegel zusammengestellt.

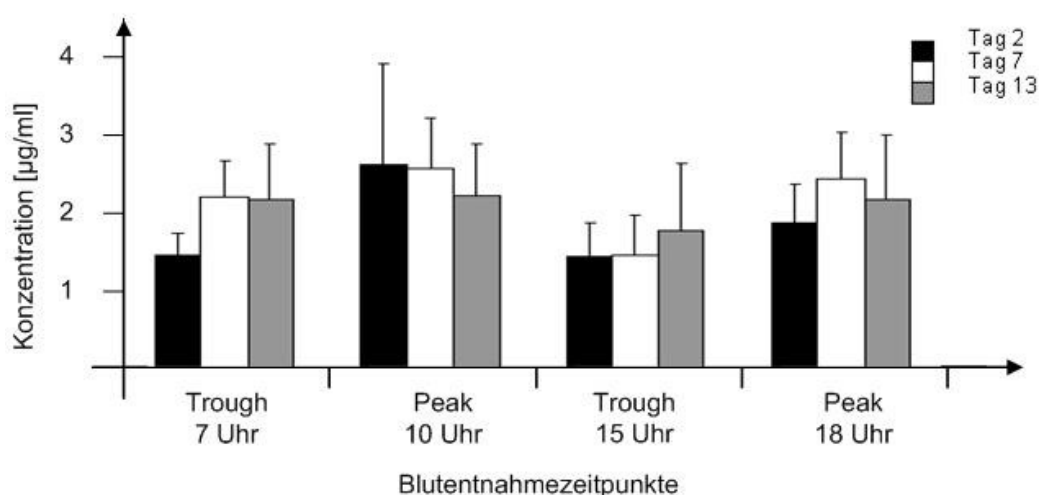


Abbildung 9: Plasmaspiegel (Mittelwerte + Standardabweichung) von Doxycyclin während 14-tägiger intraingluviärer Doxycyclingabe in der Dosis von 15 mg/kg KM, zweimal täglich; Zeitpunkte für Trough-Werte (1 h vor Applikation): 7 Uhr und 15 Uhr; Zeitpunkte für Peak-Werte (2 h nach Applikation): 10 Uhr und 18 Uhr; n = 8 Tauben pro Zeitpunkt

Die Abbildung 9 zeigt, dass mit dem gewählten Dosierungsschema von zweimal täglich 15 mg/kg KM die Mittelwerte der Plasmaspiegel auch zu den Trough-Zeitpunkten immer oberhalb dem laut der PSITTAKOSE-VERORDNUNG (2005) geforderten Plasmaspiegel von 1,0 µg/ml liegen. In den Anhangtabellen A.2, A.3 und A.4 ist ersichtlich, dass lediglich 2 Einzelwerte mit 0,88 µg/ml (als Peak-Wert 18.00 Uhr am 7. Applikationstag bzw. als Trough-Wert 15.00 Uhr am 13. Tag) diese Grenze unterschreiten.

Insgesamt war die Schwankungsbreite zwischen den Mittelwerten der Trough- und Peak-Spiegel am größten am 2. Applikationstag (1,5 bis 2,7 mg/ml), wo das Steady state offensichtlich noch nicht erreicht war, und am geringsten am 13. Tag (1,8 bis 2,3 µg/ml).

4.1 Ergebnisse zu den Untersuchungen zu Plasma- und Gewebespiegeln von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation

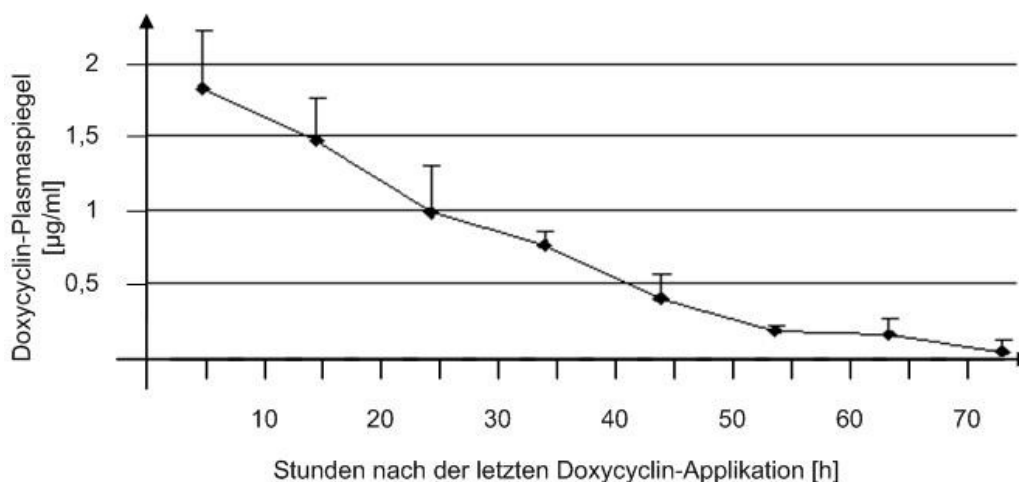


Abbildung 10: Plasma-Konzentrations-Zeit-Verlauf (Mittelwerte + Standardabweichung) von Doxycyclin nach 14-tägiger intraingluvialer Applikation von von Doxycyclin-Lösung (Dosis: 15 mg/kg KM, zweimal täglich) an Brieftauben, n = 4 Tauben pro Zeitpunkt

Durch Bestimmung der Plasmaspiegel nach Beendigung der 14-tägigen Doxycyclin-Applikation (Abbildung 10) im Zeitraum von 2 bis 73 Stunden nach der letzten Applikation konnten nochmals pharmakokinetische Parameter für die niedrigere Dosierung von 30 mg/kg KM pro Tag berechnet werden. Diese Berechnungen lieferten übereinstimmende Daten mit denen, die bereits für Dosis von 60 mg/kg KM erhoben wurden. Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Dosierungen lässt sich eine annähernde Dosisproportionalität der Parameter C_{\max} und AUC ableiten. Die folgende Tabelle 3 gibt die Zusammenstellung dieser Parameter wieder, der Tabelle A.5 im Anhang sind die Einzelwerte der Plasmaspiegel während der Doxycyclin-Abflutung zu entnehmen.

Tabelle 3: Pharmakokinetische Parameter von Doxycyclin nach letzter intraingluvialer Applikation von Doxycyclin-Lösung an Brieftauben in einer Einzeldosis von 15 mg/kg KM am Ende einer 14-tägigen Behandlungsphase mit 2x 15 mg/kg KM pro Tag – berechnet durch Nicht-Kompartiment-Analyse aus den Mittelwerten von 3 Tieren pro Zeitpunkt

Parameter	Maßeinheit	zweimal tägliche Applikation von 15 mg/kg
C_{\max}	[µg/ml]	1,83
T_{\max}	[h]	2
λ_z	[h ⁻¹]	0,0554
$t_{1/2}$	[h]	12,5
$AUC_{0-\infty}$	[µg·h/ml]	37,7
$MRT_{0-\infty}$	[h]	18,4

4.1.3 Ermittlung der Gewebespiegel in Leber und Lunge nach 14tägiger oraler Applikation von 30 mg/kg KM pro Tag

Nach Beendigung der zweiwöchigen Doxycyclin-Applikation wurden zusätzlich stichprobenweise die Wirkstoffgehalte in entnommenen Organproben der Leber und Lunge von jeweils 6 Tieren zu den Zeitpunkten 2 bzw. 7 Stunden nach der letzten Applikation bestimmt. Diese Ergebnisse und die zu diesen Zeitpunkten vorliegenden Plasmakonzentrationen sind als Mittelwerte vergleichend in der Abbildung 11 dargestellt. Die zugrunde liegenden Einzelwerte der Organkonzentrationen befinden sich in der Tabelle A.6 des Anhangs.

Vor allem in der Leber, dem Ausscheidungsorgan für die vorwiegend biliäre Elimination von Doxycyclin, war eine hohe Anreicherung mit stark streuenden Einzelwerten zwischen 8 und 26 $\mu\text{g/g}$ zum Zeitpunkt 2 h nach der letzten Applikation zu verzeichnen, die sich zum nächsten Zeitpunkt 7 h post appl. nur wenig verringert hatte (Einzelwerte 7 bis 17 $\mu\text{g/g}$).

Für die Lunge resultierten ebenfalls deutlich höhere Konzentrationen als im Plasma (Plasmaspiegel-Mittelwerte 1,8 $\mu\text{g/l}$ nach 2 h und 1,4 $\mu\text{g/ml}$ nach 6h), wobei allerdings die absolute Höhe und auch die Schwankungsbreite wesentlich geringer als in der Leber waren (3 bis 7 $\mu\text{g/g}$ nach 2 h und 2 bis 4 $\mu\text{g/g}$ nach 7 h).

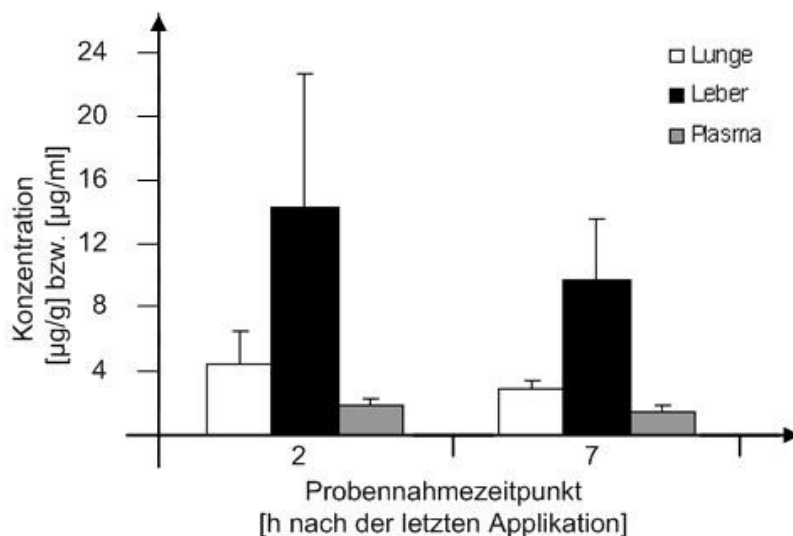


Abbildung 11: Doxycyclin-Konzentrationen (Mittelwerte + Standardabweichung) in Lunge, Leber und Plasma nach Beendigung einer 14-tägigen oralen (intraingluvialen) Applikation von zweimal täglich 15 mg/kg KM; n = 6; Probennahme 2 bzw. 7 h nach der letzten Applikation

In einem Vorversuch war über 5 Tage der tägliche Trinkwasserverbrauch von 15 Tauben unter der entsprechenden Versuchsanordnung ermittelt worden. Die Tiere hatten einen mittleren Wasserverbrauch am Tag 1 von 45 ml/kg KM, am Tag 2 von 46,6 ml/kg KM, am Tag 3 von 66,4 ml/kg KM, am Tag 4 von 74,2 ml/kg KM und am Tag 5 von 49 ml/kg KM. Einzelwerte streuten stark

4.1 Ergebnisse zu den Untersuchungen zu Plasma- und Gewebespiegeln von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation

von 12 ml/kg KM bis hin zu 192 ml/kg KM, wobei dieses Tier mit der höchsten Aufnahme eine stressbedingte Polydipsie/Polyurie am Tag 3, 4 und 5 zeigte. Die Daten zu Einzel- und Mittelwerten sind in Tabelle A.7 des Anhangs aufgelistet.

Diese Werte waren in Übereinstimmung mit den Angaben aus der Literatur, in denen die tägliche mittlere Trinkwasseraufnahme von Brieftauben in den Wintermonaten mit 40-60 ml/kg KM beschrieben wird (VOGEL 1970). Darauf basierend erfolgte die Doxycyclin-Trinkwassersupplementierung in den folgenden Untersuchungen.

4.1.3.1 Orientierender Versuch zur Trinkwassermedikation mit 800 mg/l Doxycyclin (über 3 Tage)

In einem orientierendem Vorversuch wurde an 4 Tauben über 3 Tage Doxycyclin-mediziertes Trinkwasser verabreicht. Durch vorgenommene Supplementierung mit 800 mg/l Doxycyclin sollte dabei eine tägliche Wirkstoffdosis von durchschnittlich 40 mg/kg aufgenommen werden. Die Ergebnisse sind in Abbildung 12 dargestellt. Die entsprechende Tabelle A.8 mit den Einzelwerten befindet sich im Anhang.

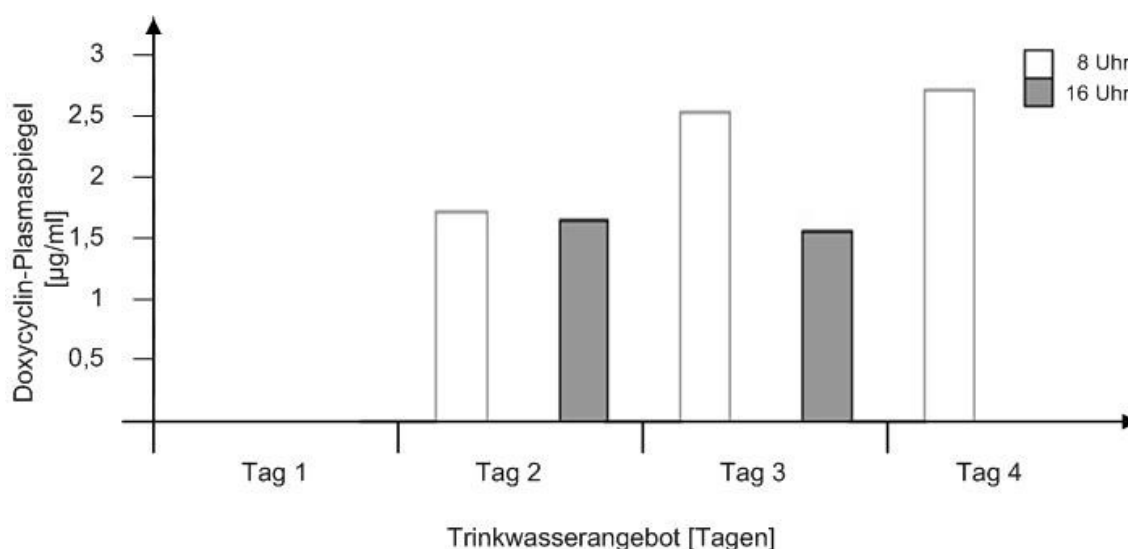


Abbildung 12: Doxycyclin-Plasmaspiegel (Mittelwerte aus 2 Proben) bei 4 Brieftauben nach Trinkwassersupplementierung mit 800 mg/l (Doxycyclin-Gehalt als Base berechnet)

Am 1. Tag des Trinkwasserangebots wurden noch keine Blutproben untersucht, aber bereits zum Zeitpunkt 8.00 Uhr am 2. Tag waren alle Plasmaspiegel auf Werte von deutlich oberhalb 1,0 µg/ml angestiegen und blieben auch oberhalb dieser Grenze während der weiteren Probenahmezeitpunkte der Untersuchungen.

Die tägliche Registrierung des Trinkwasserverbrauchs bei diesem Vorversuch zeigte eine sehr gute Akzeptanz des medikierten Wassers durch die Tauben. Die tägliche Wasseraufnahme von 48

– 62 ml/kg KM (im Mittel 58 (\pm 6,7) ml/kg KM) entsprach einer aufgenommenen Doxycyclindosis von 38 – 50 mg/kg KM und führte zu durchweg zwischen 1,5 – 2,5 μ g/ml liegenden durchschnittlichen Doxycyclin-Plasmaspiegeln. Die Spannweite der Einzelproben reichte dabei von 1,12 bis 2,76 μ g/ml (siehe Tabelle A.8 des Anhangs).

Essentiell für den Erfolg dieses Versuches war dabei die zusätzliche Supplementierung des Trinkwassers mit Zitronensäure, die in einer Konzentration von 1,0 g/l zugegeben wurde. Auf diese Maßnahme wird auch in der Literatur hingewiesen (SANTOS et al. 1997), weil nur so eine ausreichende Resorption des Doxycyclins mittels Trinkwasserapplikation gewährleistet werden kann. Durch Zusatz des starken Komplexbildners Zitronensäure wurde eine sonst erfolgende Ausfällung von Doxycyclin durch zweiwertige Kationen im Leitungswasser (Calcium- und Magnesiumsalze als „Wasserhärte“) in Form unlöslicher Komplexe verhindert. Zusätzlich wurde offensichtlich auch die Palatibilität des Trinkwassers durch Zitronensäurezugabe verbessert, wie wir in orientierenden Messungen des Wasserverbrauchs der Tauben bei Gegenüberstellung von Trinkwasserangebot mit und ohne Zitronensäurezusatz beobachten konnten (Tabelle 4).

Tabelle 4: Messung der täglichen freiwilligen Aufnahme von Trinkwasser und von mit Doxycyclin mediziertem Trinkwasser mit und ohne Zitronensäurezusatz über 3 Tage am Beispiel von je vier Brieftauben

Messung des Trinkwasserverbrauchs (Leitungswasser) in ml, abzüglich der Verdunstung im Raum von 7 ml

	Taube 29	Taube 30	Taube 31	Taube 32
1. Tag	24,0	24,0	27,0	20,0
2. Tag	22,0	35,0	27,0	19,0
3. Tag	22,0	23,0	28,0	22,0
Mittelwert	22,6	27,3	27,3	20,3
Verbrauch in ml/kg KM	37,6	55,5	52,4	40,5

Messung des Doxycyclin-Trinkwasserverbrauchs (800 mg/l Doxycyclin + 1 g/l Zitronensäure) in ml, abzüglich der Verdunstung im Raum von 7 ml

	Taube 37	Taube 38	Taube 39	Taube 40
1. Tag	29,0	26,0	24,0	23,0
2. Tag	33,0	30,0	26,0	22,0
3. Tag	30,0	26,0	27,0	23,0
Mittelwert	30,6	27,3	25,6	22,7
Verbrauch in ml/kg KM	62,2	59,2	60,2	47,6

4.1 Ergebnisse zu den Untersuchungen zu Plasma- und Gewebespiegeln von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation

Bei der HPLC-Analyse der nach 24 Stunden zurück gemessenen Doxycyclin-Trinkwasserstichproben wurden 95-102 % der Ausgangskonzentration wieder gefunden, d.h. die Stabilität der Lösungskonzentration war über diesen Zeitraum gewährleistet (Ergebnisse nicht gezeigt).

4.1.3.2 Versuch zur Trinkwassermedikation mit 750 mg/l Doxycyclin (über 10 Tage)

Nach den Ergebnissen der sehr guten Akzeptanz des Doxycyclin-haltigen Trinkwassers folgten unter Dosisverringierung Untersuchungen zu den Plasmaspiegeln bei 18 Brieftauben während eines 10-tägigen ad libitum-Angebots von Doxycyclin-supplementiertem Trinkwasser in der Konzentration von 750 mg/l. Die Ergebnisse werden in der Abbildung 13 dargestellt.

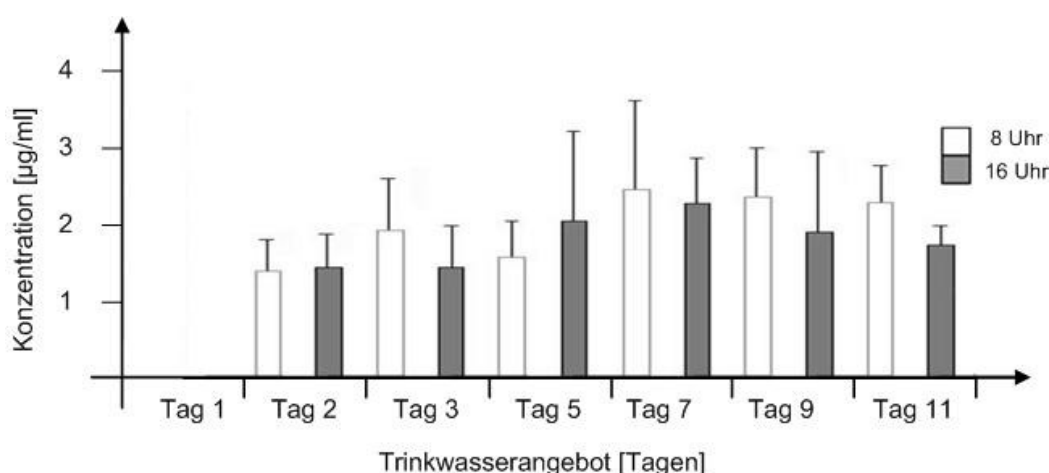


Abbildung 13: Plasmakonzentrationen von Doxycyclin (Mittelwerte + Standardabweichung) während des 10-tägigen Angebots von Doxycyclin-supplementiertem Trinkwasser in der Konzentration von 750 mg/l; Blutprobenentnahmen am Tag 2, 3, 5, 7 und 9 des Trinkwasserangebots, sowie am Tag nach dem Trinkwasserangebot (Tag 11), zweimal täglich um 8 Uhr und 16 Uhr; n = 9 Tauben pro Zeitpunkt

Die Mittelwerte der Doxycyclin-Plasmaspiegel von 9 stichprobenartig entnommenen Blutproben, waren bereits zum ersten Messzeitpunkt am zweiten Applikationstag auf Werte von 1,29 µg/ml angestiegen und blieben auch oberhalb dieser Grenze während der weiteren Probenahmezeitpunkte der Untersuchungen.

Die mittleren Plasmakonzentrationen wiesen in der zweiten Hälfte des Applikationszeitraumes, insbesondere am Tag 7, 9 und am Morgen des 11. Tages nur geringe Schwankungen bei Werten um 2 µg/ml auf.

Bei der Betrachtung der Einzelwerte wiesen einzelne Tiere an einzelnen Messzeitpunkten den angestrebten Doxycyclin-Plasmaspiegel von 1 µg/ml nicht auf. In der ersten Hälfte des

Applikationszeitraumes wurden bei vier Tieren an einem Messzeitpunkt und bei zwei Tieren an zwei Messzeitpunkten Spiegel unterhalb von 1 µg/ml gemessen, der niedrigste ermittelte Wert lag bei 0,77 µg/ml. In der zweiten Hälfte des Applikationszeitraumes lag lediglich bei einer Brieftaube am Tag 9 des Doxycyclin-Trinkwasserangebots der Spiegel mit 0,93 µg/ml unterhalb 1,0 µg/ml. Dieses Tier hatte zu allen anderen Messzeitpunkten Doxycyclin-Plasmaspiegel über 1,15 µg/ml. Eine Darstellung der Einzelwerte befindet sich im Anhang A.9.

Die erzielten Doxycyclin-Plasmaspiegel wurden durch eine tägliche Aufnahme von 22,4 - 56,4 ml/kg KM (Mittelwert 36,9 (± 9,3) ml/kg KM) von Doxycyclin-haltigem Trinkwasser erreicht, woraus sich eine durchschnittlich aufgenommene Dosis von 27,8 (± 7,1) mg/kg KM ergibt.

Vergleichend war bei den Versuchstieren bereits in der Akklimatisationsphase über 3 Tage die tägliche Trinkwasseraufnahme dieser Tiere gemessen worden. Die Aufnahme schwankte zwischen 25-70,8 ml/kg KM (Mittelwert 44,1 (± 13,0) ml/kg KM) (siehe Tabelle A.10 des Anhangs).

4.2 Ergebnisse zu den Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation im kontrollierten klinischen Test

4.2.1 Gesundheitsstatus der Tiere vor Beginn der Untersuchungen

Alle Tiere waren zum Zeitpunkt der Einstellung klinisch gesund. Das Gewicht lag zwischen 398 g und 666 g, im Mittelwert pro Gruppe bei ca. 500 g. Die Mauser war bei allen Tauben abgeschlossen.

Aus Tupfern von Rachen, Kropf und Kloake konnten in der bakteriologischen Untersuchung unspezifische Keime in geringem Maße (*Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Corynebacterium* spp. und *Pseudomonas* spp.) isoliert werden. In der mykologischen Untersuchung konnten bei 5 Tauben vereinzelt *Aspergillus fumigatus*, bei 3 Tauben vereinzelt *Mucor* spp. und bei einer Taube vereinzelt *Candida albicans* isoliert werden. Alle diese Befunde sind als Normalflora bei Tauben zu werten, insbesondere da keine klinische Symptomatik im Zusammenhang mit den isolierten Keimen feststellbar war.

Bei allen Tieren konnten nach Anreicherung einer Sammelkotprobe keine Salmonellen nachgewiesen werden. Weiterhin waren alle Tiere serologisch mit Salmonella Typhimurium-OH-Testantigen (1,4,5,12:i:1,2) Salmonellen-Antikörper negativ.

Bei 36 von 60 Tieren konnten gering- bis mittelgradig Trichomonaden im Kropf nachgewiesen werden. Diese Flagellaten sind bei Brieftauben weltweit verbreitet sind, so dass auch unter Praxisbedingungen mit einem hohen Durchseuchungsgrad zu rechnen ist. Bei 26 von 60 Tieren konnten in der parasitologischen Kotuntersuchung gering- bis mittelgradig Kokzidien nachgewiesen werden. Bei zwei Tauben konnten zusätzlich geringgradig *Capillaria* spp.-Eier, bei

4.2 Ergebnisse zu den Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation im kontrollierten klinischen Test

zwei Tauben gering- bis mittelgradig Askariden spp.-Eier in der parasitologischen Kotuntersuchung nachgewiesen werden. Weiterhin wurden Federlinge nachgewiesen. Eine Therapie wurde aufgrund des gering-, bis mittelgradigen Befalls mit Parasiten, welches bei Brieftauben im physiologischen Rahmen liegt und keine klinische Symptomatik bestand, nicht durchgeführt.

Alle Tiere waren gegen Pocken und Paramyxovirus geimpft. Eine Untersuchung auf Herpesviren erfolgte nicht, da diese Viren bei ca. 17 % der Brieftauben weltweit vorkommen, so dass ebenfalls auch unter Praxisbedingungen mit Herpesvirus positiven Beständen zu rechnen ist (Erhard, Kaleta, Leipzig, 16.03.2003). Jährige und adulte Tauben erscheinen dabei oft völlig gesund; obwohl ein Teil der Tiere Veränderungen am Rachendach wie weiß-gelbe Auflagerungen und Symptome einer Pharyngitis aufweisen kann. Dies war auch bei den eingesetzten Versuchstauben zu beobachten: ein Teil der Tiere (26 Tauben) wies geringgradig multifokal submiliare weiß-gelbe Auflagerungen am Rachendach auf.

Bei der Endoskopie der Versuchstiere zur Geschlechtsbestimmung konnten gleichzeitig pathologische Veränderungen an den Organen weitestgehend ausgeschlossen werden.

Es wurden so keine pathologische Veränderungen an den einsehbaren Bereichen von Gonaden, Nieren, Leber, Milz, kaudalen Lungenanteilen und Luftsäcken festgestellt.

Während der letzten drei Tage der Akklimatisationsphase wurde zu Trainingszwecken und zur Gewöhnung in einer Phase der Scheinbehandlung mit der Applikation begonnen. Dabei erhielten die Tiere zweimal täglich 2,0 ml Trinkwasser ohne Substanz. Keine der Tauben zeigte während dieser Akklimatisationsphase Regurgitieren, so dass alle Tauben an der Untersuchung teilnehmen konnten.

4.2.2 Tägliche tierärztliche Adspektion während der experimentellen Phase

Während der 20-tägigen experimentellen Phase mit oraler Verabreichung der Testsubstanz in verschiedenen Dosierungen konnten bei der zweimal täglich durchgeführten Adspektion zwischen der Kontrollgruppe, der Einfachdosisgruppe, der Eineinhalbfachdosisgruppe und der Doppeldosisgruppe keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Einzelne Tiere dieser vier Gruppen zeigten eine vertiefte Atmung sowie Abweichungen vom „normalen“ Kot und Harnbild, was jedoch im Zusammenhang mit einer bevorstehenden oder erfolgten Eiablage zu sehen war.

Die Tauben der Fünffachdosisgruppe zeigten ab Tag 2 ($p < 0,093$) bis Tag 28 ($p < 0,073$) der Applikation signifikante Veränderungen gegenüber den anderen 4 Gruppen in dem Untersuchungspunkt Kot und Harn morgens und abends. Der Kot zeigte bei 6 von 12 Tauben im Verlauf des experimentellen Teils der Studie eine weiche Konsistenz. Die Harnsäure zeigte bei allen 12 Tauben der Fünffachdosisgruppe im Verlauf des experimentellen und postexperimentellen

Teils der Studie Farbveränderungen in Form von gelber Farbe und Mengenveränderungen in Form von vermehrtem Harn (Polyurie).

Die Anzahl der täglichen Kot- und Harnveränderungen bei den 5 Gruppen im Studienverlauf sind in Abbildung 14 dargestellt.

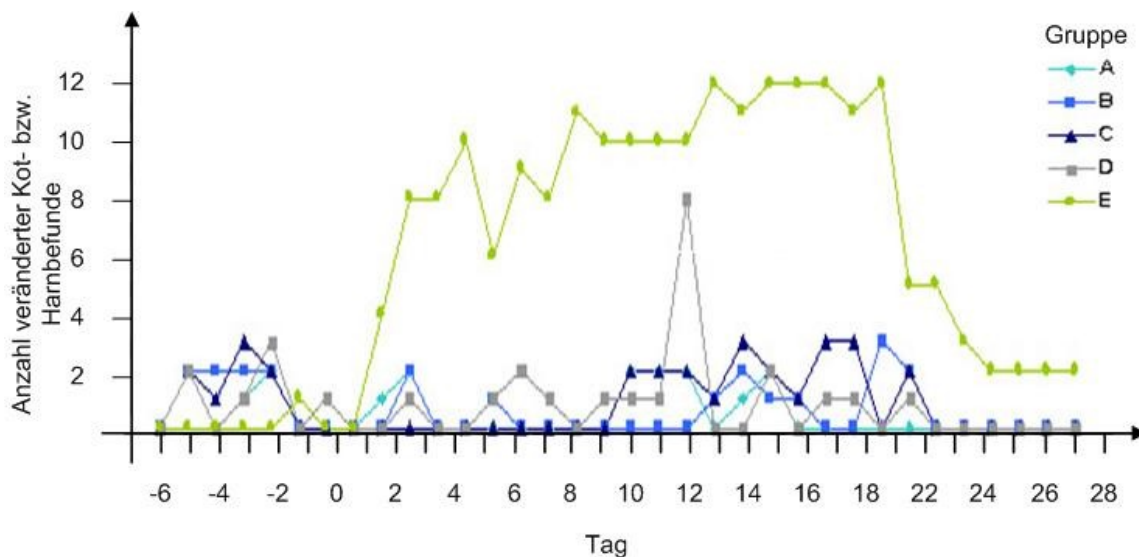


Abbildung 14: Tägliche Kot-/Harnveränderungen der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) im Studienverlauf

Abbildung 8 zeigt, dass ab Tag 3 ($p < 0,082$) bis Tag 20 ($p < 0,0001$) die Tauben der Fünffachdosisgruppe signifikante Veränderungen gegenüber den anderen 4 Gruppen (verlaufen in der Nulllinie) in dem Untersuchungspunkt Verhalten morgens und abends in Form von Regurgitieren aufwiesen. Das adspektorisch zu beobachtende Regurgitieren, wurde in den Studienprotokollen definitionsgemäß unter dem Punkt Verhaltensänderung dokumentiert. 10 von 12 Tauben waren bei der Adspektion morgens und 12 von 12 Tauben bei der Adspektion abends betroffen.

4.2 Ergebnisse zu den Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation im kontrollierten klinischen Test

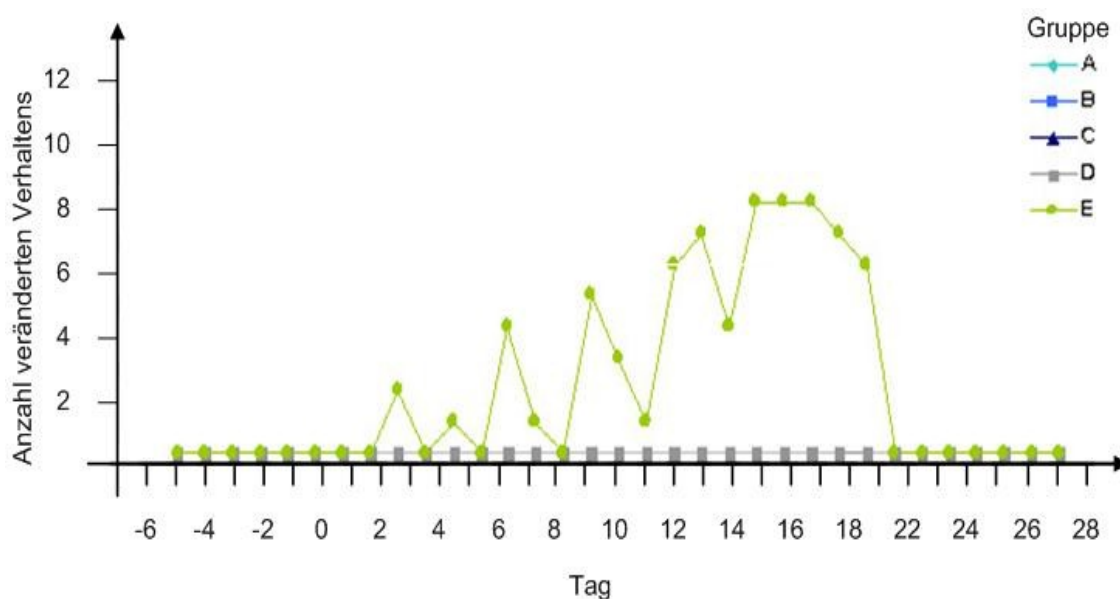


Abbildung 15: Beobachtung veränderten Verhaltens (Regurgitieren) der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) im Studienverlauf

Da bezüglich der Untersuchungspunkte Atmung, Haltung und Gefieder keine besonderen Befunde oder lediglich Einzeltierbefunde ohne signifikante Relevanz im Studienverlauf festgestellt wurden, sind die Ergebnisse nicht im Einzelnen dargestellt. Eine Taube der Einfachdosisgruppe zeigte am Tag 14, 15 und 16 ein somnolentes Verhalten mit vertiefter Atmung und rasselndem Atemgeräusch. Eine weitere Taube der Fünffachdosisgruppe zeigte ein rasselndes Atemgeräusch am Tag 2, 10 und 12.

4.2.3 Tägliche Bestimmung des Futter- und Trinkwasserverbrauches

Abbildung 16 und 17 stellen die mittlere tägliche Futter- bzw. Wasseraufnahme der 5 Gruppen im Studienverlauf dar. Den Tabellen A.11 und A.12 im Anhang sind die zugrundeliegenden Mittelwerte in g bzw. in ml zu entnehmen. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass bezüglich der Futter- und Wasseraufnahme keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen während des Untersuchungszeitraumes auftraten.

Die individuelle Futteraufnahme lag zwischen 9 g und 70 g. Die Kontrollgruppe zeigte während des Untersuchungszeitraumes durchgehend die geringste Futteraufnahme im Mittel ca. 31 g, bei der Eineinhalbfachdosisgruppe war durchgehend die höchste Futteraufnahme im Mittel von ca. 42 g zu verzeichnen.

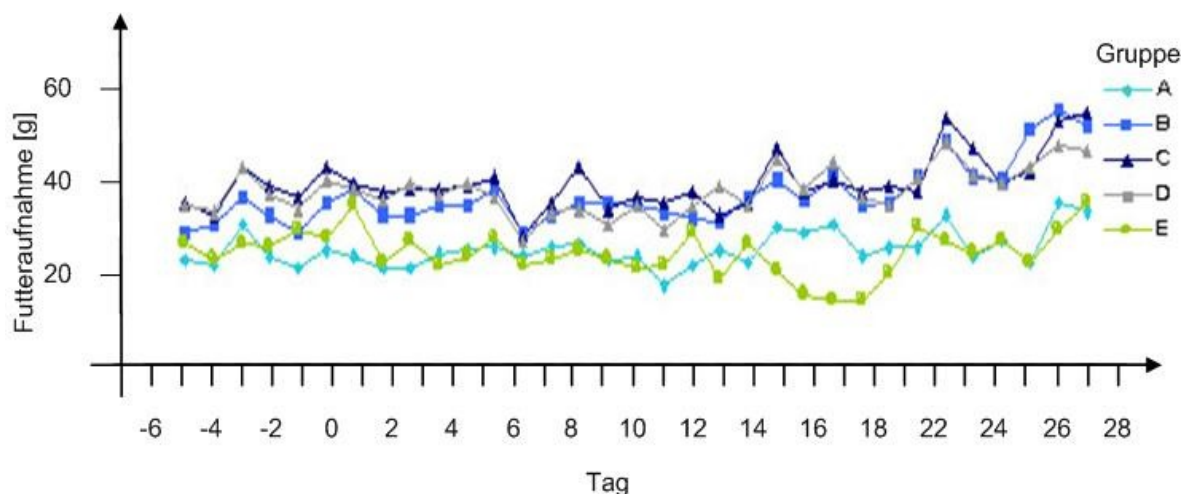


Abbildung 16: Tägliche Futteraufnahme in g der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) im Studienverlauf

Die individuelle Wasseraufnahme schwankte zwischen 4 ml und 94 ml. Die Kontrollgruppe zeigte während des Untersuchungszeitraumes durchgehend die geringste Wasseraufnahme im Mittel ca. 30 ml pro Taube. Auffallend war, dass die Wasseraufnahme in der Fünffachdosisgruppe gegenüber den übrigen Gruppen während der Akklimatisationsphase von im Mittel 20 ml auf 50 ml pro Taube anstieg.

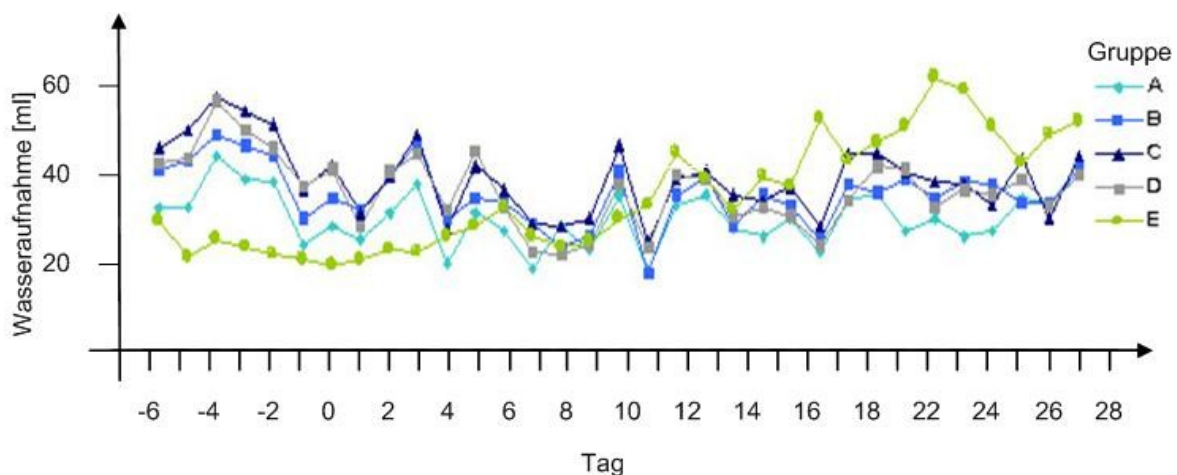


Abbildung 17: Tägliche Wasseraufnahme in ml der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) im Studienverlauf

4.2.4 Bestimmung der Körpermasse

Am Tag 14 zeigten die Kontrollgruppe und die Fünffachdosisgruppe signifikant ($p < 0,05$) geringere Körpermassen als die Doppeldosisgruppe. Am Tag 20 zeigte die Fünffachdosisgruppe eine

4.2 Ergebnisse zu den Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation im kontrollierten klinischen Test

signifikant ($p < 0,05$) geringere Körpermasse als die Einfachdosisgruppe, die Eineinhalbfachdosisgruppe und die Doppeldosisgruppe. Die Ergebnisse sind in Abbildung 18 dargestellt. Eine Zusammenstellung der mittleren Körpermassen der Brieftauben in g bringt Tabelle A.13 des Anhangs.

Die individuellen Körpermassen der Tauben betrugen während des Untersuchungszeitraumes zwischen 355 g und 643 g. Die Kontrollgruppe zeigte durchgehend die geringsten Körpermassen; im Mittel ca. 480 g. Die Fünffachdosisgruppe zeigte dabei während des Untersuchungszeitraumes einen Körpermassenverlust von im Mittel ca. 45 g. Bei 2 Tauben der Fünffachdosisgruppe wurde am Studientag 14 ein mäßiger Ernährungszustand festgestellt.

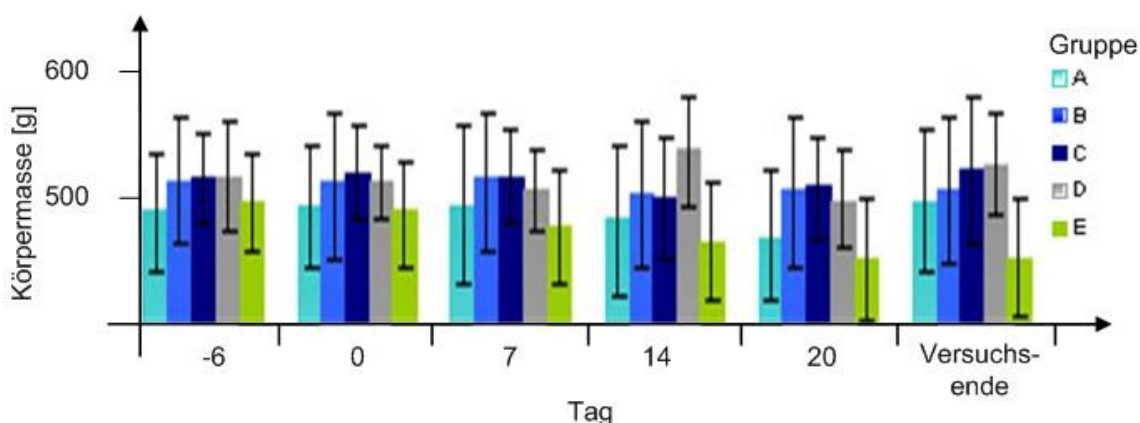


Abbildung 18: Körpermasse in g, Signifikanz $p < 0,05$: Körpermasse am Tag 14 der Fünffachdosisgruppe (E) und Kontrollgruppe (A) gegen die Doppeldosisgruppe (D), Körpermasse am Tag 20 und am Versuchsende der Fünffachdosisgruppe (E) gegen die Einfachdosisgruppe (B) Eineinhalbfachdosisgruppe (C) und Doppeldosisgruppe (D)

4.2.5 Klinische Untersuchung

Die klinischen Untersuchungen wurden am Tag -6, 0, 7, 14 und 20 vorgenommen. Der Ernährungszustand war bei den Tauben der Kontroll-, der Einfachdosis-, der Eineinhalbfachdosis- und der Doppeldosisgruppe durchgehend gut. In der Fünffachdosisgruppe fiel am Tag 7 und 14 eine Taube durch einen mäßigen Ernährungszustand auf.

Am Tag 7 fielen 5 von 12 Tauben, am Tag 14 und 20 jeweils 7 von 12 Tauben der Fünffachdosisgruppe gegenüber den anderen Gruppen ($p < 0,0001$) durch Verhaltensänderungen in Form von Regurgitieren nach Applikation der Testsubstanz auf, Abbildung 19. Tabelle A.14 mit den Befunden aller Untersuchungstage befindet sich im Anhang.

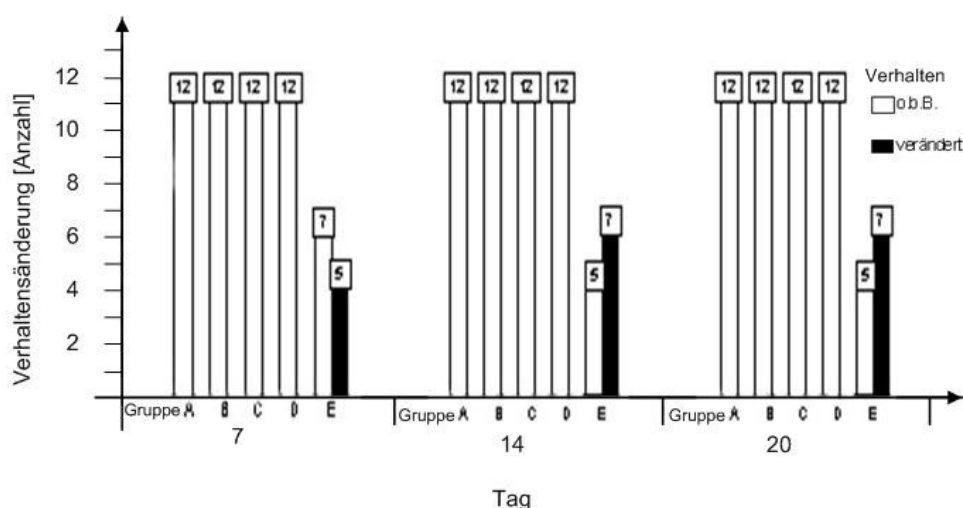


Abbildung 19: Beobachtete Verhaltensänderungen in der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) in der klinischen Untersuchung am Tag 7, 14 und 20

Abbildung 20 zeigt die Anzahl der beobachteten Kot- und Harnveränderungen an den Untersuchungstagen 7, 14 und 20. Tabelle A. 15 des Anhangs dokumentiert zusätzlich die Befunde an den Untersuchungstagen -6 und 0. 6 von 12 Tauben der Fünffachdosisgruppe zeigten am Tag 7 Veränderungen im Harnbild in Form von Polyurie und gelber Farbe. Am Tag 14 und 20 zeigten alle Tauben der Fünffachdosisgruppe entsprechende Harnveränderungen ($p < 0,0001$). Bei den übrigen 4 Gruppen traten Harnveränderungen lediglich vereinzelt auf.

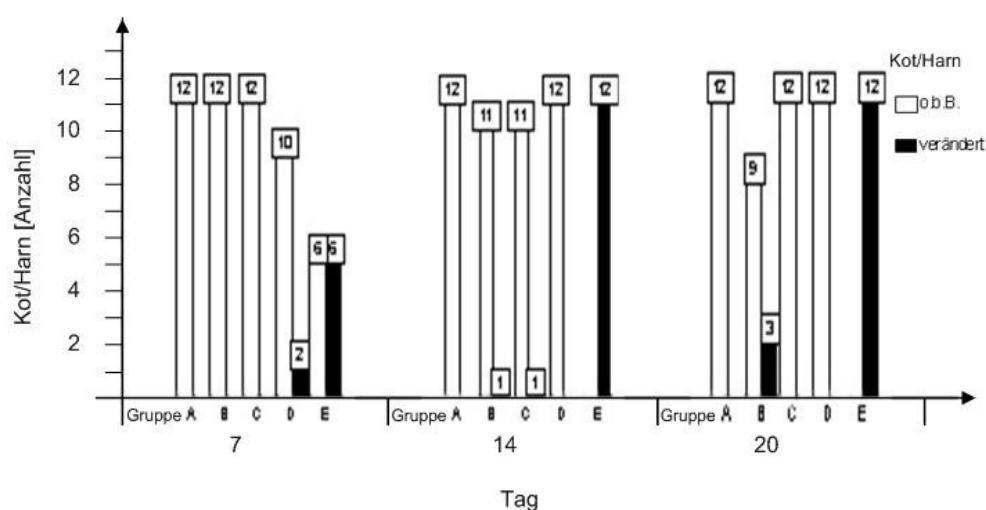


Abbildung 20: Beobachtete Kot-/Harnveränderungen in der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) in der klinischen Untersuchung am Tag 7, 14 und 20

4.2 Ergebnisse zu den Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation im kontrollierten klinischen Test

Es wurden gruppenübergreifend teilweise Veränderungen in der Schnabelhöhle in Form von multifokal submiliaren weiß-gelben nicht ohne Substanzverlust lösbaren Auflagerungen im Rachendach beobachtet. Sie könnten ein Hinweis für Herpesvirus-Infektionen sein. In der Kontrollgruppe zeigten 8 Tauben entsprechende Herde am Rachendach, in der Einfachdosisgruppe waren 6 Tauben, in der Eineinhalbfachdosisgruppe waren 8 Tauben und in der Doppeldosisgruppe waren 10 Tauben und in der Fünffachdosisgruppe waren 8 Tauben betroffen. Eine Taube in der Einfachdosisgruppe mit entsprechenden Veränderungen zeigte auch am Tag 14, 15 und 16 ein somnolentes Verhalten sowie eine vertiefte Atmung mit Atemgeräusch. Die Ausprägung der Rachenveränderungen und die Anzahl der betroffenen Tiere blieben im Verlauf der Studie in allen Gruppen gleich.

Keine Abweichungen vom klinisch unauffälligem Befund konnten bei den Untersuchungskriterien Körperhaltung, Gefieder, Kropf, Ohren, Bewegungsapparat, Nase und Nasennebenhöhlen dokumentiert werden; Ergebnisse nicht dargestellt.

Vereinzelt konnten bei verschiedenen Tieren aus unterschiedlichen Gruppen Veränderungen im Kot- und Harnbild gefunden werden, wobei jedoch, das unter Punkt 4.2.2 erwähnte entsprechend gilt.

Am Tag 14 konnte bei einer Taube der Einfachdosisgruppe eine geringgradig vertiefte Atmung mit einem rasselndem Atemgeräusch dokumentiert werden. Weiterhin konnte am Tag 0, 7 und 14 bei einer Taube der Einfachdosisgruppe Veränderungen an der Bürzeldrüse in Form einer mittelgradigen Vergrößerung (Durchmesser 1,5 cm) festgestellt werden. Am Tag -6 war bei einer Taube der Eineinhalbfachdosisgruppe ein Ei im Abdomen tastbar. Eine geringgradige purrulente Follikulitis an der rechten seitlichen Brustwand konnte am Tag 14 bei einer Taube der Eineinhalbfachdosisgruppe dokumentiert werden. Eine geringgradige beidseitige Uveitis konnte bei einer Taube der Kontrollgruppe am Tag 14 und Tag 20 diagnostiziert werden. Die Veränderungen wurden aufgrund der geringgradigen Ausprägung und des ungestörten Allgemeinzustandes der Tiere nicht weiter behandelt, die Doxycyclin-Gaben wurden fortgeführt.

4.2.6 Klinisch chemische Blutuntersuchung

Klinisch chemische Blutuntersuchungen wurden am Tag -6, 10 und 20 durchgeführt. Die Werte am Tag -6 wurden bestimmt, um individuelle Referenzwerte von den Tauben zu erhalten (SCOPE 2007b). Eine Abweichung der Werte von jeweils 25 % waren dabei als physiologisch zu interpretieren (SCOPE 2007b). Die Daten zu den Mittelwerten und Standardabweichungen aller klinisch chemischen Parameter befinden sich in den Tabelle A.16 – A.25 des Anhangs.

Gesamteiweiß

Das Gesamteiweiß aller Tauben lag zu allen Untersuchungszeitpunkten im Referenzbereich von 21-35 g/l (LUMEIJ 1987).

Albumin und Globulin

Das Verhältnis von Albumin/Globulin soll 0,8-3,6 betragen (LUMEIJ 1987; GYLSTORFF und GRIMM 1998). Dieses Verhältnis konnte bei allen Tauben während der Studie ermittelt werden.

Der Referenzwert für das Globulin ist 9-17 g/l (TEARE 1999). An den Untersuchungstagen 10 und 20 zeigten einzelne Tauben gruppenübergreifend einen minimal erniedrigten Globulinspiegel von minimal 5,9 g/l. Die Globulin- und Albuminspiegel in g/l der fünf Gruppen sind vergleichend in Abbildung 21 dargestellt. Gruppenübergreifend wurde bei einzelnen Tauben ein minimal erhöhter Albuminwert festgestellt, wobei der Maximalwert bei 21,6 g/l lag. Der Referenzwert für Albumin ist 12-14 g/l (TEARE 1999).

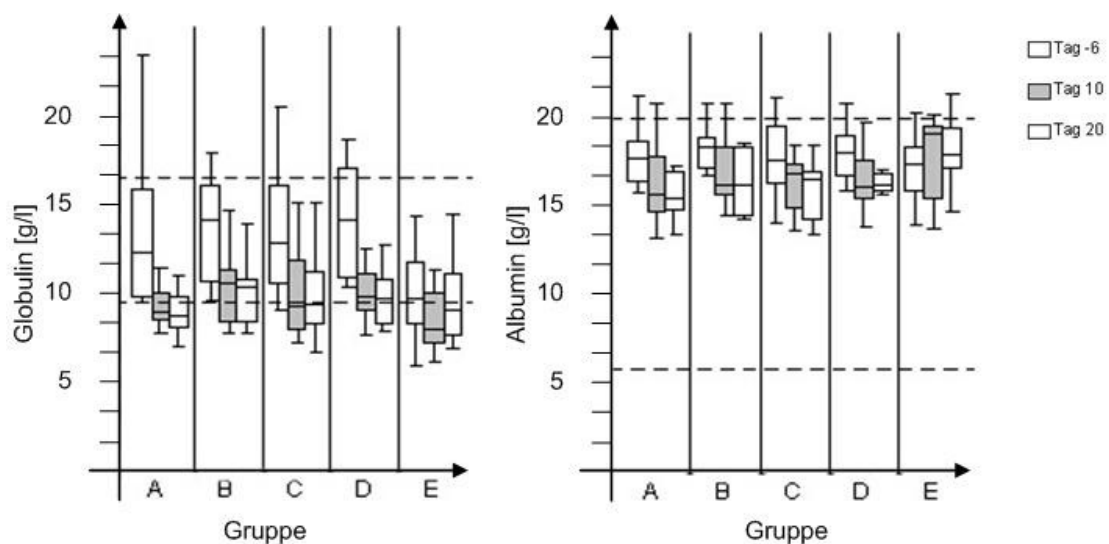


Abbildung 21: Globulin und Albumin in g/l der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) am Tag -6, 10 und 20

Creatinkinase (CK)

Am Tag -6 zeigte eine Taube in der Kontrollgruppe eine geringgradig erhöhten CK-Wert (801,7 U/l). Der Referenzwert liegt bei 110-480 U/l (LUMEIJ 1987). Die betroffene Taube zeigte ebenfalls eine erhöhten Lactat-Dehydrogenase Spiegel. An den übrigen Untersuchungstagen befand sich der CK-Wert aller Tauben im Referenzbereich.

Aspartat-Amino-Transferase (ASAT)

Der Referenzwert der ASAT liegt bei 42-155 U/l (LUMEIJ 1987; TEARE 1999). Eine Taube der Einfachdosisgruppe zeigte eine geringgradige Erhöhung des ASAT-Wertes (198,4 U/l) am Studientag 10. In der Fünffachdosisgruppe besaßen 7 Tauben einen erhöhten ASAT-Wert (von 215,0 bis 2018,0 U/l) am Studientag 10. Die betroffenen Tauben zeigten ebenfalls eine Erhöhung der Gamma-Glutamyltransferase. Alle betroffenen Tauben fielen im Verlauf der Studie durch Polyurie mit Gelbfärbung der Harnsäure auf sowie einer Verhaltensänderung in Form von Regurgitieren. Am Studientag 20 zeigten 9 von 12 Tauben der Fünffachdosisgruppe einen erhöhten ASAT-Spiegel (von 261,6 bis 1888,8 U/l) im Blut. Alle betroffenen Tauben besaßen auch einen erhöhten GGT-Wert sowie Polyurie mit Gelbfärbung der Harnsäure und zeigten eine Verhaltensänderung in Form von Regurgitieren.

Aus Abbildung 15 ist zu erkennen, dass im Untersuchungszeitraum in der Fünffachdosisgruppe im Mittel ein Anstieg der ASAT-Werte von 72,5 auf 664,8 U/l festgestellt wurde. Das gehäufte Auftreten von erhöhten ASAT-Werten in dieser Gruppe ist gegenüber den übrigen 4 Gruppen signifikant ($p < 0,05$; $p < 0,01$)

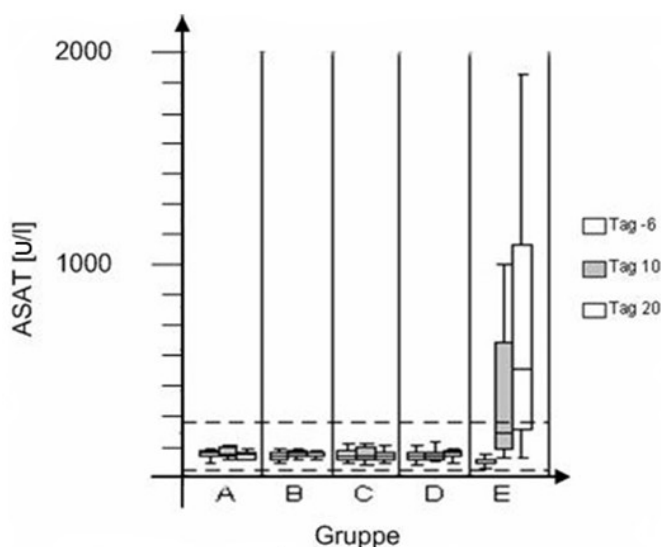


Abbildung 22: ASAT in U/l der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) am Tag -6, 10 und 20

Lactat-Dehydrogenase (LDH)

Der Referenzwert der LDH liegt zwischen 30-264 U/L (LUMEIJ 1987; TEARE 1999). Lediglich einzelne Tauben aus allen Gruppen zeigten geringgradige Erhöhungen der LDH-Werte an den verschiedenen Untersuchungstagen, Abbildung 23.

Am Tag 10 besaßen 2 Tauben der Kontrollgruppe einen erhöhten LDH-Spiegel von 343 U/l und 396 U/l. Eine der Tauben wies geringgradig multifokal submiliare weiße nicht ohne Substanzverlust lösbare Auflagerungen am Rachendach auf. In der Doppeldosisgruppe wies ein Tier am Tag 10 einen erhöhten LDH-Spiegel (593 U/l) auf. Dieses Tier besaß submiliare weiße nicht ohne Substanzverlust lösbare Auflagerungen am Rachendach und pathologisch-histologisch eine extramedulläre Hämatopoese in der Leber.

Am Tag 20 zeigten 2 Tauben der Einfachdosisgruppe einen erhöhte LDH-Wert von jeweils 397 U/l. Beide Tauben besaßen multifokal submiliare weiße nicht ohne Substanzverlust lösbare Auflagerungen am Rachendach. In der Eineinhalbfachdosisgruppe zeigte eine Taube am Tag 20 einen erhöhten LDH-Wert (654 U/l). Dieses Tier zeigte pathologisch-histologisch lediglich eine geringgradige extramedulläre Hämatopoese in der Niere sowie eine Aktivierung des Bronchus Associated Lymphatic Tissue in der Lunge. Bei 2 Tauben der Fünffachdosisgruppe konnten ebenfalls am Tag 20 erhöhte LDH-Spiegel (486 U/l und 373 U/l) festgestellt werden. Beide Tiere wiesen zudem einen erhöhten ASAT- sowie GGT-Wert auf. Eine Taube wies außerdem einen erhöhten Gallensäuren-Wert auf. Die Tiere waren bereits am Untersuchungstag 10 durch erhöhte ASAT- und GGT-Spiegel aufgefallen. In der klinischen Untersuchung konnte Polyurie mit Gelbfärbung der Harnsäure festgestellt werden und sie zeigten eine Verhaltensänderung in Form von Regurgitieren. Des Weiteren zeigten die Tiere einen hochgradigen Gewichtsverlust von >10% der Körpermasse, so dass bei einem Tier ein mäßiger Ernährungszustand an dem Untersuchungstag 14 dokumentiert wurde. In der pathologisch-anatomischen Untersuchung zeigten die beiden Tauben Lebern von diffus gelb-brauner Farbe. Pathologisch-histologisch konnten jedoch keine besonderen Befunde an den beiden Lebern erhoben werden.

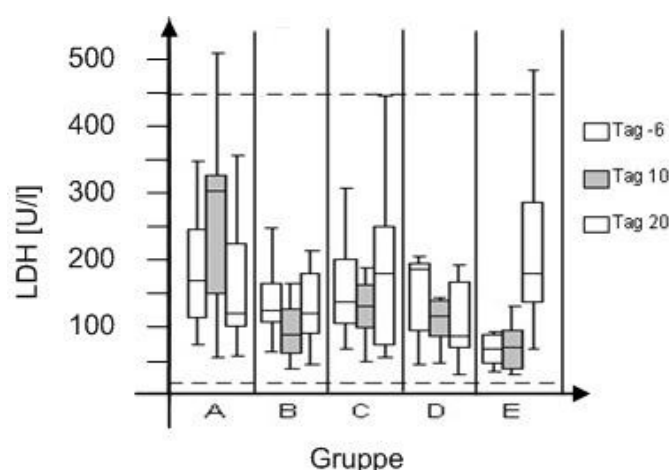


Abbildung 23: LDH in U/l der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) am Tag -6, 10 und 20

Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)

Die Gamma-Glutamyl-Transferase weist eine niedrige Plasmakonzentration von 0-2,9 U/l (LUMELJ 1987) auf. Aus Abbildung 24 ist ersichtlich, dass in der Fünffachdosisgruppe am Tag 10 bei 7 Tauben erhöhte GGT-Werte (4,3 bis 84,0 U/l) festgestellt wurden. Am Tag 20 zeigten alle Tiere in dieser Gruppe erhöhte GGT-Werte (8,3 bis 327,4 U/l). Während des Untersuchungszeitraumes konnte im Mittel ein Anstieg der GGT-Werte in der Fünffachdosisgruppe von 0,6 auf 111,9 U/l festgestellt werden. In den übrigen Gruppen konnten keine veränderten GGT-Werte gemessen werden, so dass die Fünffachdosisgruppe sich in diesem Untersuchungspunkt hochsignifikant ($p < 0,0001$) von den übrigen 4 Untersuchungsgruppen unterschied.

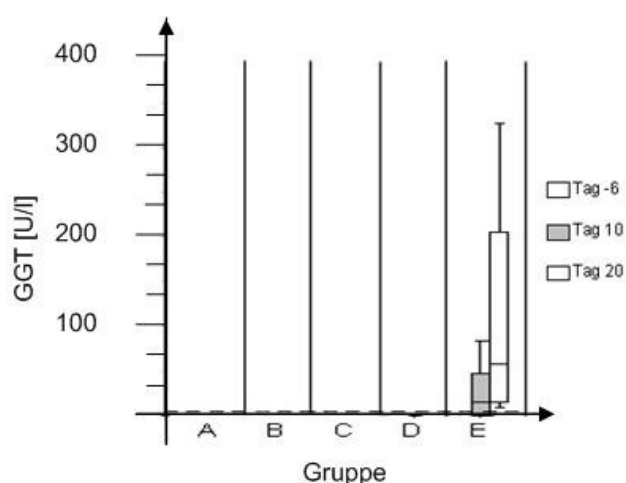


Abbildung 24: GGT in U/l der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) am Tag -6, 10 und 20

Harnsäure

Bei allen Tauben wurde ein Harnsäurewert im Referenzbereiches von 150-765 $\mu\text{mol/l}$ ermittelt.

Gallensäure und Cholinesterase

Die Bestimmung der Gallensäure- und der Cholinesterase-Werte wurde aufgrund der Ergebnisse der anderen Untersuchungen nur bei der Fünffachdosisgruppe durchgeführt. Beide Parameter sind für die Leber hochspezifisch und sensitiv (ZINKE et al. 2001). Der Referenzwert für die Gallensäure ist 40-106 $\mu\text{mol/l}$ (FUDGE und JOSEPH 2000). Für die Cholinesterase ist der Referenzwert 2377-5332 U/l (ZINKE et al. 2001). Bei einer Taube konnte am Tag 10 ein erhöhter Cholinesterase-Wert (6878 U/l) gemessen werden. Die übrigen Enzymwerte waren jedoch bei dieser Taube im Normbereich. Am Tag 20 konnte bei 2 Tauben erhöhte Gallensäure-Werte (153 $\mu\text{mol/l}$, 219 $\mu\text{mol/l}$) gemessen werden. Beide Tauben zeigten auch erhöhte ASAT- und GGT-

Werte. Pathologisch-anatomisch zeigten die Lebern eine diffuse gelb-braune Farbe. Eine dieser beiden Tauben wies pathologisch-histologisch eine akute Hepatitis auf.

4.2.7 Hämatologische Untersuchung

Eine hämatologische Blutuntersuchung wurde am Tag -6, 10 und 20 durchgeführt. Die Daten zu den Mittelwerten und Standardabweichungen aller hämatologischen Parameter befinden sich in den Tabelle A.26 – A.32 des Anhangs.

Hämatokrit

Der Referenzwert des Hämatokrits für Brieftauben beträgt 0,39-0,59 (LUMEIJ 1987). Der Hämatokrit aller Tauben lag zu allen Untersuchungszeitpunkten im Referenzbereich.

Leukozytenzahl

Der Referenzwert für die Leukozytenzahl ist $6 - 30 \times 10^9/l$ (JOHNSON-DELANEY 1996; TEARE 1999). Die Ergebnisse der Ermittlung der Leukozytenzahlen bei den Brieftauben sind in Abbildung 25 dargestellt. Am Untersuchungstag 10 zeigte eine Taube der Fünffachdosisgruppe eine Leukozytose ($31,2 \times 10^9/l$). Diese Taube und 3 weitere zeigten am Tag 20 eine Leukozytose (von 39,6 bis $78,4 \times 10^9/l$). Die 4 Tauben fielen weiterhin auf durch ein >10-%igen Gewichtsverlust, Regurgitieren, Polyurie mit gelbem Harnabsatz, 2 dieser 4 Tauben wiesen einen mäßigen Ernährungszustand auf und 2 von 4 Tauben zeigten Polydypsie. Bei einer betroffenen Taube konnte pathologisch-histologisch eine akute Leberentzündung diagnostiziert werden. Die übrigen 4 Gruppen zeigten zu den Untersuchungszeitpunkten keine veränderten Leukozytenzahlen.

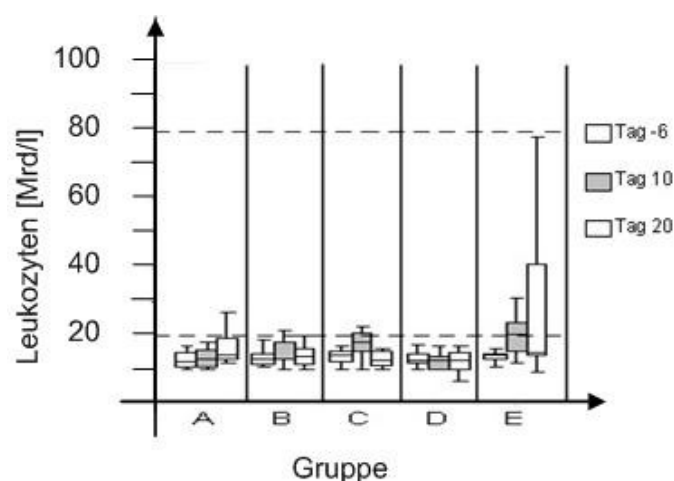


Abbildung 25: Leukozyten in Mrd./l der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) am Tag -6, 10 und 20

Heterophile Granulozyten

Der Referenzwert für die heterophilen Granulozyten ist 15-50% (JOHNSON-DELANEY 1996). Am Tag 20 zeigte jeweils eine Taube aus der Kontrollgruppe, der Einfachdosisgruppe und der Eineinhalbfachdosisgruppe eine geringgradige Heteropenie von 13 %. Ein Zusammenhang mit dem verabreichten Doxycyclin konnte jedoch nicht erkannt werden.

Die betroffene Taube der Kontrollgruppe wies pathologisch-histologisch geringgradig multifokal lymphozytäre Infiltrate im Bereich der Gallengänge auf. Das betroffene Tier der Einfachdosisgruppe fiel bereits am Tag 10 durch einen erhöhten ASAT-Wert auf. Am Tag 14, 15 und 16 zeigte das Tier ein somnolentes Verhalten sowie eine verstärkte Atmung mit Atemgeräuschen. Die betroffene Taube der Eineinhalbfachdosisgruppe zeigte pathologisch-histologisch eine Aktivierung des lymphatischen Gewebes in Darm und Lunge sowie eine geringgradige extramedulläre Hämatopoese in der Niere. Außerdem waren mehrere Follikel am Ovar blutgefüllt. Alle Tauben mit Veränderungen der heterophilen Granulozyten-Zahl besaßen geringgradig multifokal submiliare weiße nicht ohne Substanzverlust lösbare Herde am Rachendach, so dass eine zugrunde liegende Herpesvirus-Infektion nicht ausgeschlossen ist.

Im Unterschied ($p < 0,0001$) zu den 4 genannten Gruppen, konnte bei der Fünffachdosisgruppe eine vermehrte Zahl an heterophilen Granulozyten dokumentiert werden. Eine Heterophilie konnte bei einer Taube am Tag 10 sowie 5 weiteren Tauben am Tag 20 dokumentiert werden, Abbildung 26. 4 von den 6 Tauben fielen bereits durch eine Leukozytose auf.

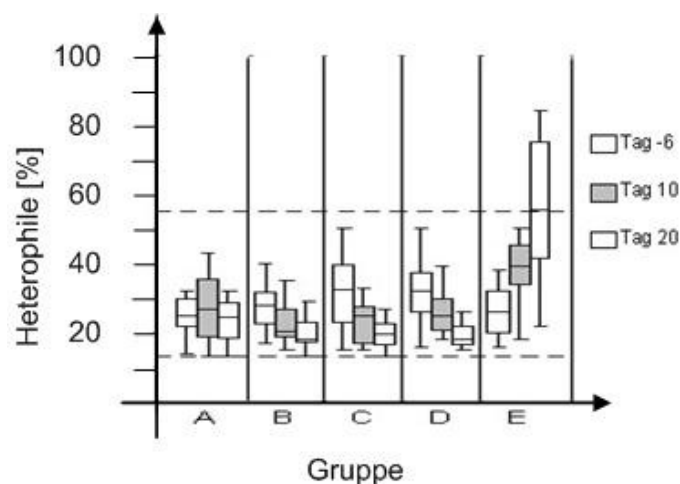


Abbildung 26: Heterophile in % der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) am Tag -6, 10 und 20

Basophile Granulozyten

Der Referenzwert für die basophilen Granulozyten ist 0-3 % (JOHNSON-DELANEY 1996; VOGEL et al. 1999). Lediglich bei 2 aus unterschiedlichen Gruppen und an verschiedenen Tagen konnte eine geringgradige Basophilie festgestellt werden.

Eine geringgradige Basophilie konnte am Tag 10 bei einer Taube der Kontrollgruppe (5 %) dokumentiert werden. Bei diesem Tier konnte pathologisch-histologisch eine Pneumonie infolge einer Eidotterembolie diagnostiziert werden. Am Tag 20 wurde bei einer Taube der einfachen Therapiedosisgruppe eine geringgradige Basophilie (4 %) festgestellt. Diese Taube zeigte sonst keine weiteren Veränderungen.

Eosinophile Granulozyten

Der Referenzwert für die eosinophilen Granulozyten ist 0-2 % (JOHNSON-DELANEY 1996; VOGEL et al. 1999). Lediglich bei 3 Tauben aus 2 unterschiedlichen Gruppen und an verschiedenen Tagen konnte eine geringgradige Eosinophilie festgestellt werden.

Am Tag 10 wurde bei einer Taube in der Doppeldosisgruppe eine Eosinophilie (6 %) dokumentiert, eine pathologische Untersuchung wurde bei diesem Tier nicht durchgeführt. Am Tag 20 wurde bei zwei weiteren Tauben in der Kontrollgruppe eine Eosinophilie (7 %, 3 %) festgestellt. Pathologisch-histologisch konnte bei einer Taube in der Leber geringgradig perivaskulär lymphozytäre und heterophile Infiltrate gefunden werden. Die andere Taube zeigte pathologisch-histologisch eine Aktivierung des lymphatischen Gewebes der Lunge sowie eine geringgradig extramedulläre Hämatopoese in der Niere.

Lymphozyten

Der Referenzwert für die Lymphozyten ist 25-93 % (JOHNSON-DELANEY 1996; VOGEL et al. 1999). Die Taube der Fünffachdosigruppe, welche bereits durch eine Leukozytose und Heterophilie am Tag 10 aufgefallen war, zeigte ebenfalls eine reaktive Lymphopenie (20 %). Zwei weitere Tauben, welche ebenfalls bereits durch Leukozytose und Heterophilie aufgefallen waren, zeigten auch eine Lymphopenie (16 %, 22 %) am Tag 20. Die Ergebnisse sind in Abbildung 27 dargestellt.

4.2 Ergebnisse zu den Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation im kontrollierten klinischen Test

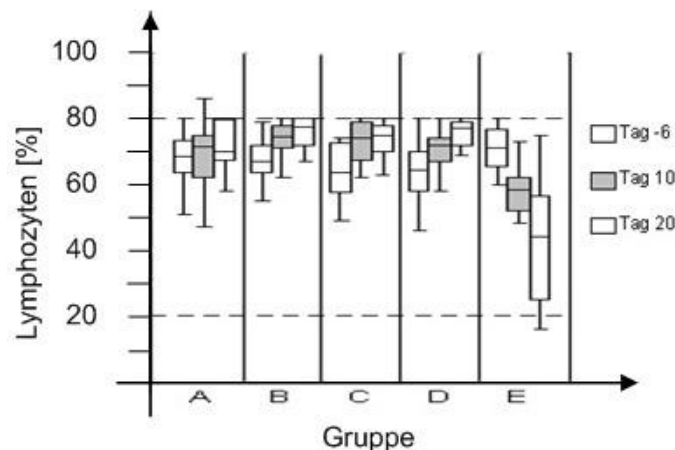


Abbildung 27: Lymphozyten in % der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E) am Tag -6, 10 und 20

Monozyten

Der Referenzwert für die Monozyten ist 1-8 % (JOHNSON-DELANEY 1996; VOGEL et al. 1999). Während der Studie lagen die Werte aller Tauben im Referenzbereich.

4.2.8 Pathologische Untersuchung

Es wurden 36 von 48 Tauben in der ersten Studie pathologisch untersucht. Auf die Untersuchung der übrigen 12 Tauben wurde aus Tierschutzaspekten verzichtet, da sowohl klinisch wie auch bei den bereits pathologisch-anatomisch untersuchten Tieren keine Veränderung vorhanden waren und somit auch nicht zu erwarten waren. In der Folgestudie wurden alle 12 Tauben der Fünffachdosisgruppe einer pathologischen Untersuchung zugeführt. Die pathologische Untersuchung erfolgte am Tag 21 und am Tag 27. Am Tag 21 wurden jeweils 6 Tiere pro Gruppe pathologisch untersucht. 7 Tage später wurden jeweils 3 bzw. die verbleibenden 6 Tiere pro Gruppe untersucht um eventuell auftretende pathologisch-toxikologische Wirkungen des Präparates abzuklären.

Die beschriebenen Befunde waren sowohl am Untersuchungstag 21 sowie am Untersuchungstag 27 zu finden. Im Hinblick auf diese verschiedenen Untersuchungstage konnten keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeit der auftretenden Befunde in den Versuchsgruppen dokumentiert werden.

4.2.8.1 Pathologisch-anatomische Untersuchung

Bei den Befunden der pathologisch-anatomischen Untersuchung am Tag 21 und 27 handelte es sich bei der Kontrollgruppe, Einfachdosisgruppe, der Eineinhalbfachdosisgruppe und der

Doppeldosisgruppe um Einzeltierbefunde, signifikante Unterschiede zwischen diesen Gruppen konnten nicht festgestellt werden. In der Fünffachdosisgruppe hingegen wurden signifikant unterschiedliche Befunde gegenüber den anderen Gruppen erhoben.

Leber: Die Veränderungen der Leber in der Fünffachdosisgruppe waren gegenüber den anderen Gruppen signifikant ($p < 0,004$), Abbildung 28. Die Lebern zeigten eine Veränderung der Farbe in Form von diffus gelb-brauner (3 Tauben) und gelb-roter (3 Tauben) Farbe. Bei den Tauben konnten pathologisch-histologisch eine gering- bis mittelgradige extramedulläre Hämatopoese (2 Tauben), eine akute Hepatitis (1 Taube), eine fettige Leberzelldegeneration (1 Taube) und keine Veränderungen (2 Tauben) diagnostiziert werden. Eine Übersicht über die Befunde liefert Tabelle A.34 des Anhangs.

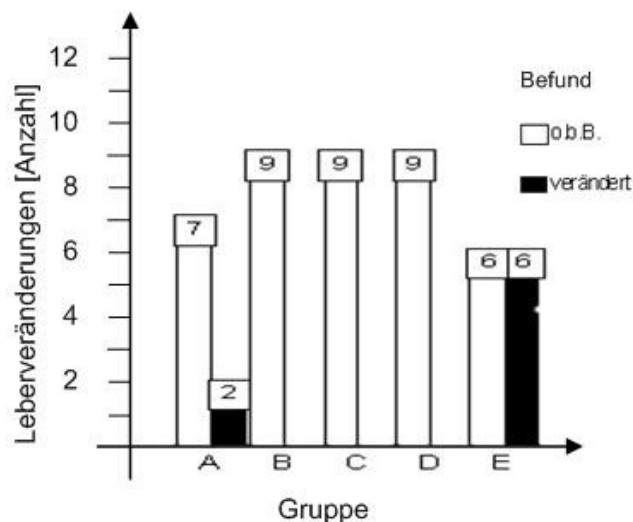


Abbildung 28: Anzahl der Tiere mit Leberveränderungen der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbfachdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E)

Ernährungszustand: Einen sehr guten Ernährungszustand zeigten 2 Tauben der Kontrollgruppe, 3 Tauben der Einfachdosisgruppe und 2 Tauben der Doppeldosisgruppe. Eine Taube der Fünffachdosisgruppe wies einen mäßigen Ernährungszustand auf. Die übrigen pathologisch untersuchten Tauben besaßen einen guten Ernährungszustand.

Ovar: Bei jeweils einer Taube aus der Kontrollgruppe und der Eineinhalbfachdosisgruppe konnten Befunde am Ovar erhoben werden. Dabei handelt es sich bei der Taube aus der Kontrollgruppe um zystenartige Veränderungen der Follikel, welche teilweise blutgefüllt waren. Am Tag 10 zeigte das Tier eine Basophilie. Pathologisch-histologisch konnte eine Pneumonie aufgrund einer Eidotterembolie diagnostiziert werden. Die Veränderungen am Ovar der Taube aus der Eineinhalbfachdosisgruppe war durch blutgefüllte Follikel gekennzeichnet.

4.2 Ergebnisse zu den Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation im kontrollierten klinischen Test

Lunge: Eine Taube der Einfachdosisgruppe zeigte in der Lunge fokal einen roten ca. 1,0 x 1,0 x 0,7 cm großen Herd, welcher sich pathologisch-histologisch als ein parabronchiales Ödem herausstellte. Dieses Tier fiel am Tag 14, 15 und 16 durch eine vertiefte Atmung mit rasselndem Atemgeräusch auf.

Kropfschleimhaut: Eine Taube der Fünffachdosisgruppe fiel durch eine geringgradig verdickte Kropfschleimhaut auf. Pathologisch-histologisch stellte sich dies als eine mittelgradig orthokeratotische Hyperkeratose dar. Das Tier fiel bereits in der klinischen Untersuchung am Tag 20 durch Regurgitieren nach der Medikamentenapplikation per Knopfsonde auf.

Bei der Auswertung der Organgewichte zeigte sich, dass die Tauben der Fünffachdosisgruppe im Mittel signifikant (Leber: $p < 0,017$, Milz: $p < 0,228$, Niere: $p < 0,001$, Herz: $p < 0,0001$) geringere Gewichte von Leber, Milz, Herz und Niere aufwiesen. Die zugrundeliegenden Daten befinden sich in der Tabelle A.33 des Anhangs.

Abbildung 29 zeigt, dass die Tauben aus der Kontrollgruppe ein Milzgewicht von im Mittel 0,26 g aufwiesen, welches signifikant ($p < 0,05$) höher lag als das Milzgewicht der Tauben aus den anderen 4 Gruppen von im Mittel 0,16 g. Eine mögliche Depletion der Milz als Ursache des geringeren Gewichtes in den behandelten Gruppen konnte jedoch pathologisch-histologisch nicht bestätigt werden.

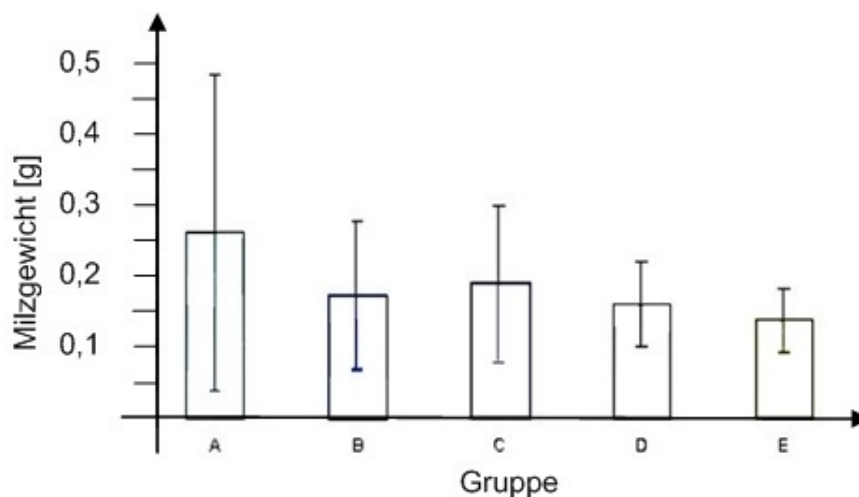


Abbildung 29: Milzgewichte in g (Mittelwerte + Standardabweichung) der Kontrollgruppe (A), der Einfachdosisgruppe (B), Eineinhalbdosisgruppe (C), Doppeldosisgruppe (D) und Fünffachdosisgruppe (E)

4.2.8.2 Pathologisch-histologische Untersuchung

Bei den Befunden der pathologisch-histologischen Untersuchung am Tag 21 und 27 handelt es sich um Einzeltierbefunde, signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen konnten nicht festgestellt werden.

Zellen des roten Blutbildes: Der häufigste pathologisch-histologische Befund war eine extramedulläre Hämatopoese in der Leber und/oder der Niere, welche 28 von 48 untersuchten Tauben aufwiesen. Bei 12 von 28 Tauben konnte die extramedulläre Hämatopoese nur in der Leber, bei 7 von 28 Tauben nur in der Niere und bei den übrigen 9 Tauben in beiden Organen diagnostiziert werden. In der Kontrollgruppe zeigten 7 von 9 Tauben, in der Einfachdosisgruppe 4 von 9 Tauben, in der Eineinhalbfachdosisgruppe 7 von 9 Tauben, in der Doppeldosisgruppe 6 von 9 Tauben und in der Fünffachdosisgruppe 4 von 12 Tauben diesen Befund. Als Ursache der vorliegenden Hämatopoese ist ein Blutverlust durch die Blutentnahmen an den 3 Untersuchungstagen als Ursache wahrscheinlich.

Bei einem Tier der Kontrollgruppe, sowie einem Tier der Doppeldosisgruppe konnte zusätzlich eine Hämosiderose in der Leber festgestellt werden, welche durch einen verstärkten Abbau von Erythrozyten bedingt wird.

Lymphatisches Gewebe: Eine verstärkte Aktivierung von lymphatischen Gewebe in Lunge und Digestionstrakt konnte bei 13 von 48 untersuchten Tauben diagnostiziert werden. Bei 8 von 13 Tauben war das lymphatische Gewebe in der Lunge (Bronchus Associated Lymphatic Tissue), bei 3 von 13 Tauben das lymphatische Gewebe des Verdauungstraktes (Gut Associated Lymphatic Tissue) und bei den übrigen 2 Tauben waren beide Gewebe aktiv. In der Kontrollgruppe zeigten 3 Tauben, in der Einfachdosisgruppe 2 Tauben, in der Eineinhalbfachdosisgruppe 4 Tauben, in der Doppeldosisgruppe 2 Tauben und in der Fünffachdosisgruppe 2 Tauben diesen Befund. Bis auf ein Tier der Eineinhalbfachdosisgruppe und die beiden Tiere der Fünffachdosisgruppe zeigten alle betroffenen Tiere auch eine extramedulläre Hämatopoese.

Leber: Veränderungen in der Leber konnten bei 11 von 48 untersuchten Tauben festgestellt werden. In der Kontrollgruppe, der Einfachdosisgruppe und der Fünffachdosisgruppe zeigten jeweils 3 Tauben und in der Doppeldosisgruppe 2 Tauben Leberveränderungen. In der Eineinhalbfachdosisgruppe konnten pathologisch-histologisch keine Leberveränderungen festgestellt werden.

5 von 11 der betroffenen Tiere zeigten degenerative Leberveränderungen in Form einer mittelgradigen diffusen panlobulären gemischttröpfigen degenerativen Leberzellverfettung (jeweils

4.2 Ergebnisse zu den Untersuchungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation im kontrollierten klinischen Test

ein Tier der Einfachdosisgruppe, der Doppeldosisgruppe und der Fünffachdosisgruppe), einer geringgradigen panlobulären hydropischen Leberzelldegeneration (ein Tier der Einfachdosisgruppe) sowie Anisokaryose (ein Tier der Kontrollgruppe).

Die Taube der Kontrollgruppe zeigte gleichzeitig eine kalzinotische Tubulonephrose.

Das Tier der Einfachdosisgruppe mit der hydropischen Leberzelldegeneration wies außerdem ein geringgradiges parabronchiales Ödem, eine Erhöhung des ASAT-Wertes am Tag 10 sowie eine somnolentes Verhalten mit einer vertieften Atmung und rasselnden Atemgeräuschen auf.

Das betroffene Tier der Fünffachdosisgruppe fiel durch Polydypsie, Polyurie mit gelber Harnsäure sowie einem Anstieg des ASAT- und GGT-Wertes am Tag 20 auf.

Geringgradig akute bis subakute nicht-eitrige Hepatitiden konnten bei je 2 Tauben der Kontrollgruppe und der Fünffachdosisgruppe sowie bei jeweils einer Taube der Einfachdosisgruppe und der Doppeldosisgruppe diagnostiziert werden.

Eine betroffene Taube der Kontrollgruppe zeigte weiterhin am Tag 20 eine Heteropenie und eine Eosinophilie. Die andere betroffene Taube der Kontrollgruppe zeigte ebenfalls am Tag 20 eine Eosinophilie.

Die Taube der Einfachdosisgruppe zeigte einen sehr guten Ernährungszustand und keine weiteren veränderte Befunde. Auch bei der Taube der Doppeldosisgruppe konnten keine weiteren veränderten Befunde erhoben werden. Bei den beiden Tauben der Fünffachdosisgruppe waren die ASAT-, GGT-, Cholinesterase- und Gallensäure-Werte erhöht. Außerdem lag eine Leukozytose (eine Taube) und Hetrophilie mit und ohne Lymphopenie vor.

Lunge: Eine Pneumonie aufgrund einer Eidotterembolie konnte bei einer Taube der Kontrollgruppe diagnostiziert werden.

2 Tauben der Einfachdosisgruppe zeigten ein geringgradiges parabronchiales Lungenödem. Eine dieser beiden Tauben zeigte ebenfalls eine hydropische Leberzelldegeneration sowie weitere Befunde, welche bereits weiter oben näher beschrieben wurden. Die andere Taube fiel nur weiter durch einen sehr guten Ernährungszustand auf, die übrigen Befunde waren jeweils im Referenzbereich.

Niere: Pathologisch-histologisch konnte bei einer Taube der Kontrollgruppe, wie bereits weiter oben im Text erwähnt, Nierenveränderungen in Form einer kalzinotischen Tubulonephrose diagnostiziert werden.

Herzmuskulatur: Bei einer Taube der Doppeldosisgruppe wurde eine geringgradige Myolyse des Myokards diagnostiziert. Das betroffene Tier zeigte sonst keine weiteren veränderten Befunde.

2 Tauben der Fünffachdosisgruppe besaßen Fettvakatwucherung im Herzmuskel. Beide Tauben fielen durch einen hochgradigen Körpermassenverlust von >10 % auf. Eine Taube zeigte entsprechend einen mäßigen Ernährungszustand.

Kropfschleimhaut: 2 Tauben der Fünffachdosisgruppe zeigten eine orthokeratotische Hyperkeratose im Kropf. Beide Tiere waren bereits durch Regurgitieren nach Applikation der Testsubstanz aufgefallen. Beide Tiere wiesen einen erhöhten ASAT- und GGT-Spiegel auf sowie eine Taube zusätzlich einen erhöhten LDH-Spiegel und eine Taube einen erhöhten Cholinesterase-Spiegel. Weitere Befunde waren ein mäßiger Ernährungszustand, Gewichtsverlust, Polydypsie sowie Polyurie mit gelbem Harn. Darüber hinaus wurde bei einer Taube eine akute bis subakute seröse Hepatitis sowie Heterophilie festgestellt. Die andere Taube zeigte eine diffus gelb-braun gefärbte Leber, Leukozytose, Heterophilie und Lymphopenie.

5 Diskussion

Zielstellung der vorliegenden Untersuchungen war es, Daten zur Pharmakokinetik und Verträglichkeit von Doxycyclin nach oraler Applikation an Brieftauben zu erheben. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde ein Dosierungsregime für die Medikation von Doxycyclin über das Trinkwasser im Hinblick auf seine Eignung für die Behandlung der Ornithose der Brieftauben entwickelt. Brieftauben stellen bis heute ein bedeutendes Erregerreservoir der Ornithose dar (VANROMPAY et al. 1995; PENNYCOTT 2008). Studien zur Zieltierart Brieftaube sind für die Entwicklung eines Therapieregimes unverzichtbar, da die Übertragbarkeit von Dosierungen, z. B. von Antibiotika, zwischen den einzelnen Vogelspezies nur bedingt möglich ist, da erhebliche Speziesunterschiede bestehen (FLAMMER 2000, FLAMMER 2001). Sogar zwischen einzelnen Taubenarten müssen, wie DORRESTEIN et al. (1990) zeigten, pharmakokinetische Unterschiede berücksichtigt werden. Die Schwierigkeit in der Bekämpfung der Ornithose liegt in der Notwendigkeit des Erreichens ausreichend hoher antibiotischer Wirkspiegel über einen ausreichend langen Zeitraum, da sich die Erreger intrazellulär in die Wirtszellen zurückziehen und von dem bakteriostatisch wirkenden Doxycyclin nur während der Replikationsphasen erfasst werden können (FLAMMER 1997, GERLACH 1999).

In Studien über die in-vitro-Aktivität von Doxycyclin wurde für 12 *Chlamydophila psittaci* – Stämme, die von Psittaziden isoliert wurden, eine minimale Hemmkonzentration von 0,01 bis 0,08 µg/ml in Zellkulturen ermittelt (HENNING und KRAUS 1986); für 14 Stämme, die von Puten isoliert wurden, eine minimale Hemmkonzentration von 0,05 bis 0,2 µg/ml (BUTAYE et al. 1997).

Im Rahmen der staatlichen Bekämpfung der Ornithose wird für eine erfolgreiche Therapie von *Chlamydophila psittaci* empfohlen, dass Doxycyclin-Plasmaspiegel von > 1 µg/ml über einen Zeitraum von 25 Tagen erreicht werden müssen. Das zu entwickelnde Dosierungsregime zur Trinkwasserapplikation von Doxycyclin bei Brieftauben sollte diesen Anforderungen genügen.

Die vorliegenden Untersuchungen erfolgten auch im Fall der Verlaufsstudien nicht umfassend über 25 Tage. Aus Tierschutzgründen wurden jedoch die Versuche verkürzt, wenn im Zustand des Steady State ein eindeutiges Ergebnis vorlag und eine weitere Veränderung des erreichten Gleichgewichts nicht mehr zu erwarten war.

5.1 Plasmakinetik nach einmaliger oraler Doxycyclinapplikation von 60 mg/kg KM

5.1.1 Bewertung der Resorption von Doxycyclin aus dem Magen-Darm-Trakt

Zu Beginn der Untersuchungen wurde durch Bestimmung des Plasmakonzentrations-Zeit-Verlaufs nach einmaliger Verabreichung einer Dosis von 60 mg/kg KM (intraingluviale Gabe mittels Knopfsonde) die Resorption von Doxycyclin nach oraler Applikation untersucht, und es wurden pharmakokinetische Parameter dafür berechnet (Abbildung 8 und Tabelle 2).

Bereits 30 Minuten nach oraler Aufnahme des Wirkstoffs wurden Plasmakonzentrationen um die 3 µg/ml gemessen. Diese lassen auf eine initial rasche Resorption von Doxycyclin aus dem oberen Gastrointestinaltrakt schließen. Das sich 2 bis 12 h nach oraler Aufnahme anschließende, breite und hohe Plateau von Maximalwerten zwischen 6 und 8 µg/ml weist auf eine ausreichende Bioverfügbarkeit hin. Es resultiert aus einer anhaltenden Resorption von Doxycyclin aus dem Gastrointestinaltrakt, durch welche sich ein verzögerter T_{\max} von 6,0 h ergab.

Werte für die absolute Bioverfügbarkeit konnten in diesem Experiment nicht berechnet werden, da keine vergleichenden Untersuchungen der Plasmaspiegel nach intravenöser Applikation durchgeführt wurden. Beschreibungen in der Literatur jedoch zeigen, dass die Bioverfügbarkeit von Doxycyclin nach oraler Applikation bei gefasteten Tieren, beispielsweise bei Sträussen bei 5,03 % (ABU-BASHA et al. 2006), bei Broilerküken bei 70 % (LACZAY et al. 2001) und, abhängig vom Alter der Tiere, bei Puten zwischen 25 und 64 % (SANTOS et al. 1996) liegt. Eine etwas geringere Bioverfügbarkeit wurde in denselben Studien für nicht gefastete Tiere ermittelt. Untersuchungen bei Säugetieren zeigten, dass jedoch die Resorption von Doxycyclin weniger durch die Nahrungsaufnahme beeinflusst wird, als dies bei anderen Tetracyclinen der Fall ist (SHAW und RUBIN 1986; CHAMBERS 2005).

Für die Anwendung bei der Brieftaube ist insbesondere zu beachten, dass Doxycyclin schwerlösliche Verbindungen mit Kationen, wie sie in mineralischen Futterzusätzen enthalten sind, eingeht (STAHLMANN und LODE 2001). In den vorliegenden Untersuchungen wurden den Tieren im Versuchszeitraum deshalb keine Mineralstoffzusätze und kein Grit verabreicht. Durch Wechselwirkungen mit mineralischen Futterzusätzen kann die Absorption des Wirkstoffs stark eingeschränkt sein. Aus den selben Gründen empfiehlt POWERS et al. (2000) für die Verfütterung von pelletiertem Futter an Papageien einen maximalen Calciumgehalt von 0,7 %. Diese Empfehlung ist auch für Brieftauben anzuwenden.

Im Hinblick auf die orale Resorption von Doxycyclin sind auch die von SANTOS et al. (1996) veröffentlichten Studien von Interesse. Die Autoren untersuchten die Adsorption einer Doxycyclin-Lösung, die oral an gefastete Puten verabreicht wurde, an die Oberfläche des Gewebes des Gastrointestinaltrakts. Mittels fluoreszenzmikroskopischer Analyse konnten sie Doxycyclin noch 12 h nach oraler Gabe auf dem Epithel von Kropf und Oesophagus, sowie 6 h lang auf dem Duodenumepithel nachweisen. Diese Adsorption von Doxycyclin an die Epithelzellen des Gastrointestinaltrakts machten sie für die zum Teil geringe Bioverfügbarkeit des Wirkstoffs bei Puten mit verantwortlich. Es kann gefolgert werden, dass auch bei der oralen Applikation von Doxycyclin an Brieftauben solche Adsorptionserscheinungen im Bereich des Epithels des Gastrointestinaltraktes vorkommen und dies als Ursache für die verlängerte Absorption zu sehen ist. Unterschiede bei den Einzeltieren sind möglicherweise durch individuell unterschiedliche oder

5.1 Plasmakinetik nach einmaliger oraler Doxycyclinapplikation von 60 mg/kg KM

durch den Füllungsgrad des Magen-Darm-Trakts beeinflusste Kropfentleerungsgeschwindigkeiten erklärbar. Die Bioverfügbarkeit scheint bei den von uns untersuchten Brieftauben ähnlich wie bei Sträussen (ABU-BASHA et al. 2006) im Gegensatz zu anderen Vogelarten vergleichsweise niedrig zu sein, da bei anderen Spezies mit wesentlich niedrigeren Doxycyclin-Dosen als 60 mg/kg KM (z. B. bei Puten mit 25 mg/kg KM – SANTOS et al. 1996; Broilerküken 10 mg/kg KM – LACZAY et al. 2001) trotzdem ähnlich hohe Maximalspiegel erzielt wurden wie in den vorliegenden Untersuchungen. Insgesamt kann in den hier vorliegenden Untersuchungen die Resorption von Doxycyclin aus dem Magen-Darm-Trakt als ausreichend und reproduzierbar beurteilt werden. Im Hinblick auf die Reduzierung von Nebenwirkungen und eine möglichst gute Verträglichkeit wurden in weiterführenden Untersuchungen mit einer reduzierten Dosis pharmakokinetische Daten erarbeitet.

5.1.2 Beurteilung der Eliminationsgeschwindigkeit

Der Verlauf der Arzneimittel-Konzentration im Organismus wird im Zusammenwirken von Resorption und Elimination bestimmt. In den durchgeführten Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Doxycyclin bei Brieftauben zeigte sich neben der verzögerten Resorption von Doxycyclin auch eine relativ langsame Elimination. Mit einer Halbwertszeit von 11,3 h fielen die Plasmakonzentrationen erst 72 h *post applicationem* in den Bereich der Nachweisgrenze auf 0,15 µg/ml ab (Abbildung 8).

Anschließende Untersuchungen mit wiederholten oralen Gaben von Doxycyclin in der Dosis von 30 mg/kg KM pro Tag (aufgeteilt in zwei gleiche Einzeldosen morgens und abends) über 14 Tage lieferten für die Berechnung der Halbwertszeit nach Gabe der letzten Einzeldosis am 14. Tag mit 12,5 h ein ähnliches Ergebnis.

Diese Werte stimmen mit den Literaturdaten zur Halbwertszeit von Doxycyclin bei anderen Vogelspezies überein; z. B. wurden bei Puten Werte zwischen 8 und 11 h (SANTOS et al. 1996), bei Broilerküken (LACZAY et al. 2001; ISMAIL und EL-KATTAN 2004) und Papageienvögeln (FLAMMER et al. 2001) Werte zwischen 7 und 9 h ermittelt. Bei oraler Gabe von 50 mg/kg KM Doxycyclin an Psittaziden schwankte die Halbwertszeit zwischen 4 bis 10 h bei Nymphensittichen und *Amazona* spp. und mehr als 20 h bei verschiedenen Kakadu- und Araspezies (FLAMMER 1997).

Hingegen zeigen Ergebnisse einer Studie von DORRESTEIN et al. (1990) bei Brieftauben und Türkentauben unter ähnlichen Studienbedingungen eine schnellere Elimination bei den Türkentauben. Hierbei ließ sich nach einer oralen Dosis von 40 mg/kg KM auch ein signifikanter Unterschied in der Eliminationshalbwertszeit von 5,3 h für Brieftauben und 4,0 h für Türkentauben ermitteln. Dies führte DORRESTEIN auf eine höhere Metabolismusrate aufgrund der geringeren

Körpermasse zurück. In Untersuchungen von ANADÓN et al. (1994) wurden mit 4,8 h auch kürzere Halbwertszeiten für Hühner berechnet. Im Vergleich mit anderen Tetracyclinen zeigte sich in Untersuchungen an Puten, dass Doxycyclin eine wesentlich längere Eliminationshalbwertszeit aufzuweisen scheint als Oxytetracyclin (0,74 h) (DYER 1989).

Bei intramuskulärer und subkutaner Applikationen von Doxycyclin verlängert sich die Serumhalbwertszeit auf 40 bzw. 37 h bei Brieftauben (DORRESTEIN et al. 1986a) und bis zu 74,2 ($\pm 8,4$) h bei Amazonen (FLAMMER und PAPICH 2005). DORRESTEIN et al. (1986a) erklären dies durch eine andauernde, kontinuierliche Resorption aus der Injektionsstelle bei langsamer, konstanter Elimination. TRAUB (1982) fand bei Mohrenkopfpapageien, FLAMMER und PAPICH (2005) bei Amazonen nach intramuskulärer Injektion von 75 mg/kg KM Doxycyclin noch am 5. Tag Werte, die über 1,0 $\mu\text{g/ml}$ Blut lagen.

Auf der Basis der in den vorliegenden Studien ermittelten Eliminationshalbwertszeit lässt sich ableiten, dass sich mit zweimal täglicher oraler Gabe von Doxycyclin an Brieftauben ein anhaltender Plasmawirkspiegel aufrecht erhalten lässt.

5.2 Plasmakinetik von Doxycyclin bei 14-tägiger oraler Applikation von 30 mg/kg KM pro Tag – Aufbau eines konstanten therapeutischen Wirkspiegels zur Ornithosetherapie bei der Brieftaube

Ziel des zweiten Versuchs war es zu überprüfen, ob bei wiederholten oralen Doxycyclin-Gaben von 30 mg/kg KM pro Tag bei Brieftauben über einen längeren Behandlungszeitraum Plasmaspiegel $> 1,0 \mu\text{g/ml}$ erreicht und aufrecht erhalten werden können, wie dies für die effektive Behandlung der Ornithose empfohlen wird. Die Dosisanpassung auf 30 mg/kg KM erfolgte basierend auf den Ergebnissen der erzielten Plasmakonzentrationen des vorangehenden Versuchs mit 60 mg/kg KM. Die Verabreichung erfolgte unter Berücksichtigung der Halbwertszeit von etwa 12 h in 2 gleichen Tagesdosen von 15 mg/kg KM, um möglichst geringe Schwankungen zwischen minimalen (Trough-) und maximalen (Peak-) Plasmaspiegeln zu erreichen.

Die Mittelwerte der Plasmakonzentrationen am Tag 2, 7 und 13 des 14-tägigen Behandlungsintervalls waren zu allen gemessenen Zeitpunkten, sowohl zum Zeitpunkt der Trough-Spiegel (jeweils 1 h vor oraler Applikation), als auch zum Zeitpunkt der Peak-Spiegel (jeweils 2 h nach Applikation), höher als 1,0 $\mu\text{g/ml}$, dargestellt in Abbildung 9. Die Versuchsergebnisse bestätigen, dass die verabreichte Tagesdosis ausreichend ist, um über den gesamten Behandlungszeitraum mittels oraler Applikation bei Brieftauben einen Doxycyclin-Plasmaspiegel von $> 1,0 \mu\text{g/ml}$, entsprechend den Anforderungen der „Verordnung zum Schutz gegen Psittakose und Ornithose 2005“, zu gewährleisten. Während die Plasmaspiegel am 2. Tag im Tagesverlauf noch zwischen 1,5 ($\pm 0,5$) $\mu\text{g/ml}$ und 2,7 ($\pm 1,3$) $\mu\text{g/ml}$ schwankten, war die Schwankungsbreite

5.2 Plasmakinetik von Doxycyclin bei 14-tägiger oraler Applikation von 30 mg/kg KM pro Tag – Aufbau eines konstanten therapeutischen Wirkspiegels zur Ornithosetherapie bei der Brieftaube

zwischen Minimal- und Maximal-Spiegeln am 13. Untersuchungstag mit Mittelwerten zwischen 1,8 ($\pm 0,5$) $\mu\text{g/ml}$ und 2,3 ($\pm 0,7$) $\mu\text{g/ml}$ gering. Da auch kaum Unterschiede zu den jeweiligen Plasmaspiegeln des 7. Untersuchungstages resultierten, wurde dieser Versuch wegen offensichtlichen Erreichens eines Steady-State-Zustand zu diesem frühen Zeitpunkt nach 14 Tagen abgeschlossen, da im weiteren Verlauf keine wesentlichen Änderungen der Blutspiegelwerte zu erwarten waren.

Bei der Berechnung pharmakokinetischer Parameter, die nach Gabe der letzten Einzeldosis von 15 mg/kg KM ermittelt wurden, wurde entsprechend der verringerten Doxycyclin-Dosis bezüglich der AUC eine ungefähr viermal niedrigere $\text{AUC}_{0-\infty}$ von 38 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ ermittelt, verglichen mit 188 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ nach oraler Applikation von 60 mg/kg KM. Dies zeigt für Doxycyclin in diesem Dosisbereich sowohl nach einmaliger als auch unter Dauertherapie eine lineare Dosisabhängigkeit.

Zusammenfassend kann aufgrund der vorliegenden Ergebnisse die orale Dosis von 30 mg/kg KM pro Tag als ausreichend für eine erfolgreiche Behandlung der Ornithose der Brieftauben empfohlen werden. Bei konstanter oraler Aufnahme und dem Vorliegen der relativ langsamen Eliminationshalbwertszeit von ca. 12 h stellte sich im Steady State ein Doxycyclin-Plateau mit Konzentrationen um 2 $\mu\text{g/ml}$ ein, die nur geringe Fluktuationen zeigten. Diese Spiegel lagen zuverlässig oberhalb des geforderten Limitis von $> 1,0 \mu\text{g/ml}$ (PSITTTKOSE-VERORDNUNG 2005).

Ähnliche Schlußfolgerungen leiteten SANTOS et al. (1997) aus ihrer Studie ab, in der durch die einmalige orale Gabe von 25 mg Doxycyclin/kg KM an gefastete, 12 Wochen alte Puten ein maximaler Wirkspiegel von 5,7 ($\pm 2,7$) $\mu\text{g/ml}$ und ein Plasmaspiegel $> 1,0 \mu\text{g/ml}$ über 24 h erzielt wurde. In derselben Studie war es jedoch bei jüngeren Tieren und gefütterten Tieren mit dieser Dosierung nicht möglich, den Blutspiegel $> 1 \mu\text{g/ml}$ über 24 h zu halten.

Auch FLAMMER (1987) schätzte aufgrund des über 24 h anhaltenden Wirkspiegels $> 1,0 \mu\text{g/ml}$ nach einmaliger oraler Applikation von 50 mg Doxycyclin/kg KM, diese Dosis für die Psittakose-Therapie bei Venezuelaamazonen als geeignet ein, empfahl jedoch weiterführende Untersuchungen in Infektionsversuchen mit *Chlamydophila psittaci*.

Neben der Beurteilung des pharmakokinetischen Verhaltens von Doxycyclin im Plasma von Brieftauben war im Hinblick auf die Therapiegestaltung auch zu überprüfen, ob für den beabsichtigten antibakteriellen Effekt (Wachstumshemmung des Erregers) die notwendigen Konzentrationen im Zielgewebe erreicht werden können.

5.3 Ermittlung der Gewebespiegel in Leber und Lunge nach 14-tägiger oraler

Applikation – Erreichen von therapeutisch wirksamen Spiegel in den Zielorganen

Direkt im Anschluss an die 14-tägige orale Doxycyclin-Gabe wurden die Gewebespiegel von Doxycyclin in Leber und Lunge ermittelt (Abbildung 10). Die gemessenen Doxycyclin-Gehalte in diesen Organen (Leber 14,3 µg/g und Lunge 4,4 µg/g, jeweils 2 h nach der letzten Doxycyclinapplikation, zum Vergleich Plasma 1,8 µg/ml) bestätigen auch für die Brieftaube die bei anderen Spezies beobachtete starke Gewebeanreicherung des ausgeprägt lipophilen Wirkstoffs Doxycyclin.

Bei Brieftauben (DORRESTEIN et al. 1986a), Legehennen (ARCHIMBAULT et al. 1983) und verschiedenen Psittazidenspezies (TRAUB 1982) wurde in Übereinstimmung zu Studien beim Menschen (FABRE et al. 1967 u. 1971) und bei Haussäugetieren (BLANCHARD et al. 1975; SCHACH VON WITTENAU und DELAHUNT 1966) beschrieben, dass die Konzentrationen von Doxycyclin in vielen Organen höher lagen als im Serum. Die höchsten Konzentrationen wurden in den Ausscheidungsorganen, wie Leber, Galle, Niere und Magen-Darm-Trakt gefunden. Hohe Gewebespiegel werden auch in der Lunge, der Milz, in Muskulatur und Knochen und im Genitaltrakt erreicht. Für Hühner ermittelte ISMAIL und EL-KATTAN (2004) 12 h nach 5-tägiger oraler Applikation von 20 mg/kg KM zweimal täglich folgende Werte: Plasma 2,93 (± 0,25) µg/ml, Leber 4,22 (± 0,5) µg/g und Lunge 3,21 (± 0,41) µg/g. Die starke Anreicherung in der Leber, die allen Vögeln gemeinsam ist, steht offensichtlich mit der biliären Elimination des Wirkstoffs im Zusammenhang.

In der Gewebepenetration ist Doxycyclin den anderen Tetracyclinen als eines der am besten lipidlöslichen Tetracyclinderivate überlegen (GOREN et al. 1988). Aufgrund seines amphoteren Charakters (pKa 3,4; 7,7 und 9,7) ist die Lipophilie im gesamten pH-Bereich, der in vivo existiert, ausgeprägt und die Polarität gering. Wie Studien an Hühnern (ISMAIL und EL-KATTAN 2004) zeigten, ist bei erkrankten Tieren in der Regel sogar von einer noch größeren Gewebepenetration des Medikaments auszugehen. Bei Entzündungsvorgängen, die im Rahmen von Erkrankungen auftreten, steigt aufgrund der erhöhten Kapillarpermeabilität und des veränderten pH-Werts in den betroffenen Körperkompartimenten die Gewebepenetration von Tetracyclinen (ILLES 1970; BAXTER und McKELLAR 1990). Obwohl durch diese Vergößerung des Verteilungsvolumens bei erkrankten Tieren die maximalen Plasmagehalte sinken können, sind im Gewebe am Ort der Infektion ausreichende, tendentiell höhere Wirkspiegel vorhanden (ISMAIL und EL-KATTAN 2004). In den hier durchgeführten Untersuchungen ergaben sich bei gesunden Brieftauben im Vergleich zu den gleichzeitig gemessenen Plasmakonzentrationen Anreicherungsquotienten von 6 bis 7 für die Leber und etwa 2 für die Lunge zu den Zeitpunkten 2 bzw. 5 Stunden nach der letzten Doxycyclin-Applikation am 14. Versuchstag. Insbesondere die Anreicherung in der Lunge als

5.3 Ermittlung der Gewebespiegel in Leber und Lunge nach 14-tägiger oraler Applikation – Erreichen von therapeutisch wirksamen Spiegel in den Zielorganen

einem Zielorgan der Ornithose-Therapie spricht für die Eignung von Doxycyclin für diesen Einsatz bei Brieftauben. Durch die Anreicherung des stark lipophilen Doxycyclins in den Organen besteht gleichzeitig die Gefahr der Organschädigung. Dies gab Anlass in weiteren Untersuchungen die Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben zu überprüfen.

5.4 Plasmakinetik nach Trinkwasserapplikation von Doxycyclin

Basierend auf den Ergebnissen der wiederholten Gabe von 30 mg/kg KM pro Tag wurde diese Dosis für ausreichend befunden, um unter den gegebenen Haltungsbedingungen therapeutisch effektive Plasmakonzentrationen von $> 1,0 \mu\text{g/ml}$ aufrecht zu erhalten. Auf der Grundlage der ermittelten pharmakokinetischen Daten wurde ein Dosierungsregime für die Trinkwasserapplikation von Doxycyclin bei Brieftauben entwickelt und etabliert.

5.4.1 Orientierender Versuch zur Trinkwassermedikation mit 800 mg/l Doxycyclin (über 3 Tage) - Akzeptanz von doxycyclinhaltigem Trinkwasser und Darreichungsart

In einem orientierenden Versuch wurde vorab die Akzeptanz von Doxycyclin-supplementiertem Trinkwasser durch die Brieftauben sowie die Verfügbarkeit von Doxycyclin bei dieser Applikationsform untersucht.

Wie FLAMMER et al. (2001) zeigten, variieren die durch Angebot von doxycyclinhaltigem Trinkwasser erreichten Plasmaspiegel zwischen den einzelnen Vogelspezies, Konzentrationsempfehlungen sind nicht zwischen ihnen übertragbar. Unterschiede im Trinkverhalten, der geschmacklichen Wahrnehmung und Akzeptanz von Zusätzen im Trinkwasser oder beidem sind die Hauptgründe, warum bei Trinkwasserapplikation von Doxycyclin unter gleichen Haltungsbedingungen unterschiedliche Doxycyclin-Plasmaspiegel erzielt werden. So ermittelten FLAMMER et al. (2001) für Afrikanische Graupapageien eine Trinkwasserkonzentration von 800 mg/l, bei der bei guter Akzeptanz ausreichende Wirkspiegel aufgebaut wurden. Bei Venezuelaamazonen hingegen sank die Aufnahme und somit die Doxycyclin-Spiegel bei Supplementierung mit 800 mg/l im Vergleich zu 400 mg/l, da Amazonen vermutlich Doxycyclin im Trinkwasser stärker geschmacklich wahrnahmen als Graupapageien. Bei Goffin's Kakadus wiederum sollte aufgrund der hervorragenden Akzeptanz zur Vermeidung von Nebenwirkungen eine maximale Doxycyclin-Trinkwasserkonzentration von 400 mg/l angewendet werden. Bei Wellensittichen konnten mittels Trinkwasserapplikation von 400 mg/l Doxycyclin über einen 14-tägigen Behandlungszeitraum keine mittleren Plasmaspiegel $> 1 \mu\text{g/ml}$ erzielt werden, während hingegen beim Angebot von 300 mg/kg Doxycyclin-mediziertem Saatenfutter mittlere Plasmaspiegel von $> 0,98 \mu\text{g/ml}$ gemessen werden konnten (FLAMMER et al. 2003). Solche

speziesspezifischen Unterschiede gestalten es schwierig, ungetestete Dosierungs-Regime auf andere Spezies zu übertragen.

Auch innerhalb einer Spezies verhalten sich Trinkwasserkonzentration und aufgenommene Dosis nicht proportional. So sank in Untersuchungen an Puten (SANTOS et al. 1997) bei einer Verdreifachung der Trinkwasserkonzentration von Doxycyclin von 250 mg/l auf 750 mg/l die Trinkwasseraufnahme signifikant ab, es wurde lediglich die 2,2-fach höhere Dosis aufgenommen.

Im Vorfeld der vorliegenden Untersuchungen war bereits über fünf Tage unter Haltungsbedingungen von 20-22 °C bei Brieftauben (mittleres Körpergewicht 550 g) die Aufnahme reinen Trinkwassers gemessen und ein durchschnittlicher Tagesbedarf von 50 ml/kg KM ermittelt worden. Aufgrund der Annahme einer möglicherweise reduzierten Trinkwasseraufnahme durch eine schlechtere Akzeptanz des medikierten Trinkwassers wurden dem Leitungswasser 800 mg/l Doxycyclin zugesetzt, um die angestrebte Dosis sicher bei allen Vögeln zu erzielen. Nach SANTOS et al. (1997) wurde dem medikierten Trinkwasser zusätzlich Zitronensäure in der Konzentration von 1,0 g/l supplementiert, um eine Ausfällung von Komplexverbindungen zwischen Doxycyclin und bivalenten Metallionen im Trinkwasser (z. B. Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+}) zu verhindern. Die Zugabe von Zitronensäure zum medikierten Trinkwasser erwies sich auch in den vorliegenden Untersuchungen als notwendig, ohne den Zusatz von Zitronensäure kam es zu einer ausgeprägten Ausfällung weißer unlöslicher Doxycyclinkomplexe. Diese Erfahrungen stimmten mit Beschreibungen in Berichten von DORRESTEIN et al. (1981) und SANTOS et al. (1997) überein.

Die gewählte Doxycyclin-Konzentration von 800 mg/l Trinkwasser während drei Applikationstagen führte zu deutlich oberhalb 1,0 µg/ml liegenden Wirkstoff-Plasmaspiegeln. Durch gleichzeitige Trinkwassersupplementierung mit Zitronensäure konnte nicht nur die Ausfällung von Doxycyclin als schwerlösliche Komplexverbindung verhindert, sondern auch scheinbar die Akzeptanz des medikierten Trinkwassers tendenziell gesteigert werden. Ähnlich der hervorragenden Annahme der Lösung bei den Brieftauben ist bei Puten bekannt (SANTOS et al. 1997), dass die Palatabilität von Doxycyclin-Lösungen durch den Zusatz von Zitronensäure verbessert wurde. SANTOS et al. (1997) vermuten des weiteren anhand von Ergebnissen aus vergleichenden Trinkwasserversuchen bei Puten mit und ohne Zusatz von Zitronensäure, dass der Zusatz von Zitronensäure sich positiv auf die intestinale Resorption auswirkt, wie das auch für andere Tetracycline (POLLET et al. 1983) beschrieben ist. DORRESTEIN et al. schlugen bereits 1986b für Brieftauben im Hinblick auf die Anwesenheit von Calciumionen im Dünndarm den Zusatz von Zitronensäure zur Verbesserung der intestinalen Resorption vor.

In den hier vorliegenden Untersuchungen wurden mit dieser Applikationsform bei durch die Tauben aufgenommenen Trinkwasservolumina zwischen 48 und 62 ml/kg (Tabelle 4) Doxycyclin-Dosen von 38 bis 50 mg/kg KM und Tag realisiert.

5.4 Plasmakinetik nach Trinkwasserapplikation von Doxycyclin

Die Mittelwerte der Plasmaspiegel lagen zu den fünf Probenahmezeitpunkten am 2. und 3. Applikationstag sowie am Morgen des darauffolgenden 4. Tages zwischen 1,6 und 2,7 µg/ml, vergleiche Abbildung 11.

Das lässt schlussfolgern, dass mit der selbstgewählten Trinkwasseraufnahme eine gute Übereinstimmung mit ähnlichen Resorptionsquoten erreicht werden können als nach kontrollierter intraingluvialer Applikation gleicher Doxycyclin-Dosen.

Im Parallelgruppenvergleich war die Aufnahme von medikiertem Trinkwasser im Vergleich zur Aufnahme von reinem Trinkwasser geringgradig höher, so dass eine sehr gute Akzeptanz des gelösten Präparates bei einer Konzentration von 800 mg Doxycyclin / l Trinkwasser vorlag.

5.4.2 Versuch zur Trinkwassermedikation mit 750 mg/l Doxycyclin (über 10 Tage) – Aufbau von konstanten therapeutischen Wirkspiegeln bei selbstgewählter Trinkwasseraufnahme und mögliche Probleme

Nach diesem Vorversuch sollte in einem Hauptversuch mit einer erhöhten Tierzahl über einen Zeitraum von 10 Tagen die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse überprüft und das Dosierungsregime zur Trinkwasserapplikation etabliert werden. Dem Trinkwasser wurden aufgrund der hervorragenden Akzeptanz und den wesentlich oberhalb der geforderten Grenze von 1,0 µg/ml erreichten Plasmakonzentrationen statt 800 mg/l nur 750 mg/l Doxycyclin zugesetzt, die Zitronensäure wurde in der Konzentration von 1,0 g/l zugegeben.

Anders als beim orientierenden Parallelgruppenvergleich des Vorversuchs, bei dem Doxycyclin-mediziertes Trinkwasser besser aufgenommen wurde als reines Trinkwasser, sank vermutlich aufgrund einer neuen individuellen Gruppenzusammensetzung in diesem Versuch nach der Akklimatisationsphase, beim Wechsel zu medikiertem Trinkwasser, die tägliche Trinkwasseraufnahme von durchschnittlich (44,1 ± 13,0) ml/kg KM auf (36,9 ± 9,3) ml/kg KM ab (Tabelle A.10 des Anhangs). Die Trinkwasseraufnahme sank jedoch ohne statistische Signifikanz, befand sich noch im selben Bereich und blieb ohne therapeutische Konsequenz. Bei beiden Gruppen lagen starke individuelle Schwankungen bei der Trinkwasseraufnahme vor.

Die mittleren Plasmakonzentrationen, die zweimal täglich (8.00 Uhr, 16.00 Uhr) am Tag 2, 3, 5, 7 und 9 des Trinkwasserangebots, sowie am Tag 11 bestimmt wurden, erreichten Werte zwischen 1,35 (± 0,45) µg/ml und 2,40 (± 1,19) µg/ml. Während am Tag 2, 3 und um 8.00 Uhr am 5. Tag die durchschnittlichen Plasmaspiegel deutlich niedriger waren als 2,0 µg/ml, pegelten sie sich am Tag 7, 9, und um 8.00 Uhr am 11. Tag um die 2,0 µg/ml ein. Offensichtlich hatte sich die Aufnahme des medikierten Trinkwassers ab dem 5. Tag stabilisiert und sich ein Steady-State-Zustand der Plasmakonzentration eingestellt (Abbildung 12).

Nach Beendigung des Angebots von Doxycyclin-haltigem Trinkwasser am Tag 11, waren die Plasmaspiegel bereits zum Messzeitpunkt gegen 16.00 Uhr wieder unter 2,0 µg/ml gesunken. Mittelwert und Standardabweichung waren 1,68 (± 0,27) µg/ml.

Bei einer durchschnittlichen täglichen Aufnahme von Doxycyclin-supplementiertem Trinkwasser von 37 ml/kg KM konnte bei den Brieftauben während der 10-tägigen Untersuchungen eine ungefähre, aufgenommene mittlere Tagesdosis von 27 mg/kg KM errechnet werden.

2005 führte PADILLA eine Feldstudie an Fruchttauben und Ringeltauben im Saint Louis Zoo durch. In dieser Studie konnte bei ad libitum-Gabe einer Trinkwasserlösung mit 500 mg Doxycyclinhyclat/l Trinkwasser über 45 Tage eine gute klinische Wirksamkeit dokumentiert werden. Der Großteil der Tiere erreichte einen Plasmaspiegel von 1,0 µg/ml, einige Vögel konnten diesen jedoch nicht über den gesamten Studienzeitraum halten. Während vor der Behandlung bei 60% der Tiere *Chlamydophila psittaci* mittels PCR in Kloakentupfern nachgewiesen werden konnte, waren nach der Therapie trotzdem alle Tiere negativ.

Trotz starker individueller Schwankungen der Plasmakonzentrationen in den hier vorliegenden Untersuchungen zu verschiedenen Probeentnahmezeitpunkten, widerspiegelt in einem Variationskoeffizienten zwischen 26 und 50 %, verfehlten nur vor dem 5. Tag, als der Steady-State-Zustand noch nicht erreicht war, sporadisch Einzelwerte die angestrebte Höhe von 1,0 µg/ml (0,68 bis 0,93 µg/ml). Zu allen späteren Messzeitpunkten lagen zu jedem Zeitpunkt die Plasmaspiegel von Doxycyclin bei allen Einzeltieren über dem geforderten therapeutischen Spiegel von >1 µg/ml, mit Konzentrationen bis zu 4 µg/ml (Tabelle A.9 des Anhangs). Somit kann die Akzeptanz des gelösten Präparates bei einer Dosierung von 750 mg Doxycyclin/l Trinkwasser trotz etwas geringerer Aufnahme als unmediziertes Wasser als ausreichend zur Erreichung erforderlicher therapeutischer Plasmaspiegel von Doxycyclin bewertet werden.

FLAMMER et al. (2001) beschreibt aus klinischen Erfahrungen, dass eine Therapie von *Chlamydophila psittaci* in der Regel mit Doxycyclin-Plasmaspiegeln erfolgreich ist, die annähernd um 1,0 µg/ml liegen. Letztendlich kann ein Behandlungserfolg von *Chlamydophila psittaci* durch ein antimikrobielles Behandlungsregime nie vollständig garantiert werden, da das Erreichen der Erregerfreiheit stark vom Immunsystem des Wirts abhängig ist.

Während in den vorliegenden Untersuchungen die Brieftauben zu jedem Messzeitpunkt ausreichend mediziertes Trinkwasser in der Konzentration von 750 mg/l aufgenommen und somit mittlere Doxycyclin-Plasmaspiegel von > 1,0 µg/ml aufgebaut hatten, sank in einer Studie von DORRESTEIN et al. (1986b) beim Angebot von Doxycyclin-haltigem Trinkwasser in einer Konzentration von 250 mg/l die Trinkwasseraufnahme signifikant ab und es resultierten subtherapeutische Blutspiegel. Daraus kann geschlossen werden, dass die Doxycyclinkonzentration mit 250 mg/l für Brieftauben zu niedrig angesetzt und dass in den

5.4 Plasmakinetik nach Trinkwasserapplikation von Doxycyclin

vorliegenden Untersuchungen die Palatabilität durch den Zusatz von Zitronensäure entscheidend verbessert worden war.

Ähnlich zeigte sich anhand der ermittelten minimalen Plasmaspiegel C_{\min} bei Puten (SANTOS et al. 1997), dass bei 7-tägigem Angebot von Doxycyclin-haltigem Trinkwasser in der Konzentration von 250 mg/l (C_{\min} 0,7 (\pm 0,3) $\mu\text{g/ml}$) und 750 mg/l (C_{\min} 2,9 (\pm 0,4) $\mu\text{g/ml}$), erst bei der höheren Konzentration sich zuverlässig Plasmaspiegel $> 1,0 \mu\text{g/ml}$ über die gesamte Behandlungsdauer einstellten.

Bei Nymphensittichen (POWERS et al. 2000) hingegen erwies sich eine Doxycyclin-Trinkwasserkonzentration von 280 mg/l als therapeutisch ausreichend. Während mittlere Plasmaspiegel von 1,45 (\pm 0,37) $\mu\text{g/ml}$ errechnet wurden, lagen auch die individuellen Doxycyclin-Spiegel, bis auf einen Vogel zu einem Messzeitpunkt mit 0,92 $\mu\text{g/ml}$, während des Behandlungszeitraumes von 45 Tagen immer oberhalb 1,0 $\mu\text{g/ml}$. Beim Angebot von 400 mg/l Doxycyclin im Trinkwasser stellten sich mittlere Plasmaspiegel deutlich oberhalb der therapeutisch geforderten Grenze von 1 $\mu\text{g/ml}$ von 2,26 (\pm 2,86) $\mu\text{g/ml}$ ein (EVANS et al. 2008).

Es ist bei den vorliegenden Ergebnissen zur Trinkwasserapplikation zu berücksichtigen, dass die Experimente mit einer speziellen Doxycyclin-Formulierung (Doxycyclin-Hyclat) und unter kontrollierten Haltungsbedingungen bei Fütterung von Saatenfutter durchgeführt wurden.

FLAMMER (1987) beispielsweise testete drei verschiedene orale Formulierungen von Doxycyclin (Hyclat, Calcium und Monohydrat) an Venezuela-Amazonen in einer Dosis von 50 mg/kg KM. Mit Doxycyclin Monohydrat wurden, gefolgt von den Calcium- und Hyclat-Formulierungen, die höchsten Plasmaspiegel erzielt.

Da die Haltungsbedingungen im durchgeführten Versuch, mit Einzelkäfigen in einer klimatisierten Stallhaltung, nicht den tatsächlichen Haltungsbedingungen in der Praxis entsprechen, ist aufgrund vielfältiger Erfahrungen dabei mit einer stark verringerten Trinkwasseraufnahme im Vergleich zur vermehrten Aktivität und höheren Außentemperaturen unter Feldbedingungen zu rechnen. Insbesondere bei erkrankten Brieftauben kann die Trinkwasseraufnahme um ein Harnsäure Vielfaches gesteigert sein. Der Verträglichkeit sollte deshalb im Rahmen der Etablierung des Dosierungsregimes von Doxycyclin über das Trinkwasser besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden.

Während der 10-tägigen Verabreichung von Doxycyclin-mediziertem Trinkwasser wurde bereits kontinuierlich der Gesundheitszustand der Brieftauben überwacht. Es konnten keine besonderen Befunde bezüglich des Verhaltens, der Körperhaltung, des Federkleids, der Atmung und der Kot- und Harnsäureausscheidung erhoben werden.

Aufgrund der Ergebnisse von Studien bei Papageienvögeln, welche nach oraler Applikation eine Doxycyclin-Toxikose in Form einer akuten Hepatitis mit Anstieg der LDH- und ASAT-Werte sowie

Anorexie, Gewichtsverlust, Inaktivität, gesträubtes Gefieder, Diarrhoe und gelber Harnsäure zeigten (FLAMMER 2000), wurde in weiteren Untersuchungen dieser Arbeit die orale Verträglichkeit von Doxycyclin in verschiedenen Dosierungen überprüft.

5.5 Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation

In Anlehnung an die Beschreibungen von FLAMMER (2000) wurde zuerst die zweifache therapeutische Dosis als obere Grenzdosis zur Ermittlung der Verträglichkeit von Doxycyclin herangezogen. Aufgrund einer ausgezeichneten Verträglichkeit von Doxycyclin bei der Zieltierart Brieftaube bei 20-tägiger oraler Applikation und 2-facher Überdosierung wurde eine weitere Studie an Brieftauben mit einer 5-fachen Überdosierung durchgeführt.

Die Untersuchungen fanden mit der gleichen Anzahl an männlichen und weiblichen Tieren statt, da BÖCKER (1984) bei Mäusen feststellte, dass die maximalen Doxycyclin-Konzentrationen in Leber und Niere bei weiblichen Tieren höher waren als bei männlichen, so dass bei weiblichen Tieren möglicherweise stärkere Nebenwirkungen erwartet werden können. In den durchgeführten Untersuchungen konnten bei Brieftauben jedoch keine geschlechtsspezifischen Unterschiede bezüglich der Plasma- und Organspiegel oder hinsichtlich der oralen Verträglichkeit von Doxycyclin beobachtet werden.

Für die Einfachdosisgruppe (30 mg/kg KM pro Tag), Eineinhalbfachdosisgruppe (45 mg/kg KM pro Tag) und die Doppeldosisgruppe (60 mg/kg KM pro Tag) konnten keine signifikanten Veränderungen in den Untersuchungsergebnissen der täglichen Adspektion, klinischen Untersuchung am Tag -6, 0, 7, 14, 20 und 28, der klinisch-chemischen Blutuntersuchung am Tag -6, 10 und 20, der hämatologischen Blutuntersuchung am Tag -6, 10 und 20 sowie der pathologischen Untersuchung an den Tagen 21 und 27 festgestellt werden. Die Ergebnisse zeigen, dass bei oraler Anwendung von Doxycyclin-Hyclatbis zu einer Dosis von 60 mg/kg KM pro Tag, verabreicht über 20 Tage, keine Nebenwirkungen auftreten.

Die Futteraufnahme ist stark an die körperliche Konstitution sowie Leistung (Eiablage) gebunden, und schwankte, wie in Abbildung 15 und Tabelle A.11 des Anhangs aufgezeichnet, bei den fünf Gruppen innerhalb des physiologischen Bereichs. Es waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen erkennbar. Selbst in der Fünffachdosisgruppe, in welcher Nebenwirkungen infolge der Doxycyclinapplikation auftraten und bei den Brieftauben über den Zeitraum von 20 Tagen ein Körpermasseverlust von im Mittel ca. 45 g ($p < 0,05$) zu verzeichnen war (vergleiche Tabelle A.13 des Anhangs), blieb die Futteraufnahme konstant. 2 Tauben der Fünffachdosisgruppe fielen am Studientag 14 zusätzlich durch einen mäßigen Ernährungszustand auf. Der Verlust an Körpermasse ist sehr wahrscheinlich auf stressbedingte katabole Stoffwechselvorgänge und Flüssigkeitsverluste durch aufgetretene Nebenwirkungen, wie

5.5 Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation

Leberbelastung, Regurgitieren nach Medikamentenapplikation und Polyurie zurückzuführen. Fraglich bleibt, ob die konstante Futteraufnahme als speziesspezifisch für Brieftauben gesehen werden kann oder bei Trinkwassermedikation weniger beeinflusst wird, als beim Angebot von medikiertem Futter. Bei Verabreichung von Doxycyclin-medikiertem Futter wurden schwere Anorexien bei anderen Vogelspezies als Nebenwirkung beschrieben (POWERS et al. 2000).

In der Dosisgruppe, die das 5-fache der therapeutischen Doxycyclin-Dosis erhielt (150 mg/kg KM pro Tag), traten neben der oben beschriebenen Nebenwirkungen ein Anstieg von ASAT, Cholinesterase, GGT und Gallensäuren auf, wobei die letzten beiden Parameter beim Vogel als leberspezifisch angesehen werden (FUDGE 2000). In der pathologisch-anatomischen Untersuchung fielen gelb-braun oder gelb-rötlich verfärbte Lebern auf, welche sich histologisch als akut toxische Hepatitis und fettige Leberzelldegeneration darstellten.

Dass die orale Applikation von Doxycyclin bei Vögeln mit Regurgitieren einhergehen kann, ist aus anderen Studien bekannt und wurde am häufigsten bei Aras und Kakadus beobachtet (DORRESTEIN 1993). In den vorliegenden Untersuchungen fielen in der Dosisgruppe von 150 mg/kg KM alle 12 Tauben in den täglich adspektorischen und den klinischen Untersuchungen ab Tag 3 ($p < 0,082$) bis Tag 20 ($p < 0,0001$) durch Regurgitieren nach Applikation der Testsubstanz auf (Abbildung 14). Die Tauben zeigten sich diesbezüglich dennoch unempfindlicher als andere Vogelspezies. In Untersuchungen von FLAMMER (1987) an Venezuelaamazonen trat Regurgitieren ausgeprägter und bereits bei Verabreichung geringerer Dosen in Erscheinung. Bei einer oralen Dosis von 50 mg/kg KM regurgitierten 3 von 15 Tieren, bei 75 mg/kg KM und 100 mg/kg KM alle der 15 Amazonen.

Ursache des Regurgitierens könnte eine direkte Reizung der Oesophagus- und Kropfschleimhaut durch Inkompatibilitäten der Tetracycline mit di- und trivalenten Kationen (Ca^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} usw.) sein (KÜHNERT 1991), welche aber lediglich bei 2 Tauben in Form einer orthokeratotischen Hyperkeratose der Kropfschleimhaut belegt wurde. Bei Trinkwasserapplikation ist durch die Verdünnung des Wirkstoffs und die häufigere Aufnahme kleinerer Dosen mit einer Minderung dieser Nebenwirkung zu rechnen. Ob beim Angebot medikierten Trinkwassers durch die Supplementierung von Zitronensäure zusätzlich eine Reizung der Schleimhaut entstehen kann, müsste in weiteren Untersuchungen geklärt werden. In den in der Literatur dokumentierten Beobachtungen zur Verträglichkeit von Doxycyclin medikiertem Trinkwasser bei Psittaziden (POWERS und FLAMMER 1997; FLAMMER et al. 2001) traten Nebenwirkungen, wie ein Anstieg der Leberenzyme auf. Regurgitieren wurde nicht beschrieben.

Auch das Auftreten von Polydipsie und Polyurie ist bei Vögeln im Zusammenhang mit Doxycyclinapplikation beschrieben. In einer Studie von POWERS et al. (2000) entwickelte ein Nymphensittich nach Angebot von Doxycyclin-haltigem Trinkwasser in der Dosierung von 280 mg/l

eine ausgeprägte Polydipsie und Polyurie. Bei diesem Tier wurden mittlere Doxycyclin-Plasmaspiegel von $(6,85 \pm 1,64) \mu\text{g/ml}$ ermittelt. In den vorliegenden Untersuchungen zeigten die Tauben der Fünffachdosisgruppe ab Tag 2 ($p < 0,093$) bis zum Studienende 8 Tage nach der letzten Applikation ($p < 0,073$) Polyurie mit gelber Harnfarbe, (Abbildung 13). Weiterhin war ein Anstieg des Wasserbedarfs von im Mittel 20 ml auf 50 ml pro Taube während des experimentellen Teils der Studie festzustellen. Im Zusammenhang mit den signifikant veränderten blutchemischen Befunden kann vermutet werden, dass die vermehrte Wasseraufnahme und die Polyurie in einer Leberbelastung infolge einer Doxycyclin-Überdosierung begründet liegen. Durch eine verstärkte Hypertonie des Plasmas bei verminderter Stoffwechselleistung der Leber werden Durstmechanismen im Hypothalamus aktiviert. Grundsätzlich ist auch bei einer durch Reizung der Kropfschleimhaut entstandenen Entzündung mit einer vermehrten Trinkwasseraufnahme sowie nachfolgend erhöhter Harnsäureausscheidung zu rechnen. Daneben ist das Auftreten von stressbedingter Polydipsie und Polyurie beim Vogel möglich (PEES 2004). Die Veränderung der Harnsäurefarbe ist ein weiterer deutlicher Hinweis für das Vorliegen einer Leberschädigung, da anfallendes Billiverdin nicht mehr adäquat in der geschädigten Leber verstoffwechselt und somit in der Harnsäure als gelber Farbstoff ausgeschieden wird.

Bei der klinisch-chemischen Blutuntersuchung fielen in der Fünffachdosisgruppe signifikant häufiger erhöhte ASAT- ($p < 0,05$; $p < 0,01$) (Abbildung 26 und Tabelle A.20 des Anhangs) und hochsignifikant ($p < 0,0001$) häufiger erhöhte GGT-Werte (Abbildung 28 und Tabelle A.21 des Anhangs) auf. Die Aspartat-Amino-Transferase steigt bei Schädigung von Leber- und Muskelzellen. Die Gamma-Glutamyl-Transferase ist hoch spezifisch für Leberzellen. Die Bestimmung der Gallensäure- und der Cholinesterase-Werte wurde nur in dieser Gruppe durchgeführt, um einen möglichen Leberschaden anhand der klinisch-chemischen Parameter genauer evaluieren zu können (Tabelle A.24 und A.25). Beide Parameter sind für die Leber hochspezifisch und sensitiv (FUDGE 2000; ZINKE 2001). Bei drei Tieren konnte eine Erhöhung dieser Parameter dokumentiert werden. Auffallend ist ebenfalls, dass alle Tauben der Fünffachdosisgruppe am Studientag 20 einen erhöhten GGT-Wert besaßen und im Vergleich zu Studientag 10 häufiger erhöhte ASAT-Werte auftraten, so dass von einer über den Applikationszeitraum zunehmenden Leberbelastung bzw. -schädigung bei einer 5-fachen Überdosierung der Testsubstanz ausgegangen werden muss. In der Literatur ist das Auftreten einer akut toxischen Hepatitis mit einem Anstieg der Leberenzyme im Blut die bei Vögeln am häufigstenbeschriebene Nebenwirkungen infolge oraler Doxycyclin-Medikation. POWERS und FLAMMER (1997) stellten beim Angebot von Doxycyclin-haltigem Trinkwasser verschiedener Konzentrationen an Nymphensittiche bei einem Teil der Tiere erhöhte Leberwerte fest. Aufgrund der sehr guten Akzeptanz von Doxycyclin-haltigem Trinkwasser wurden bei Nymphensittichen

5.5 Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben bei 20-tägiger oraler Applikation

gehäuft leichte bis mittelschwere Intoxikationserscheinungen dieser Form beobachtet (FLAMMER 2000; POWERS et al. 2000). FLAMMER (2000) berichtet, dass auch Wellensittiche hochempfindlich für Doxycyclin-Intoxikationen sind. Bei Kakadus dokumentierten FLAMMER et al. (2001) bei einem 42-tägigen Angebot von Doxycyclin-haltigem Trinkwasser in der Konzentration von 800 mg/l bei 3 von 8 Tieren einen Anstieg von ASAT und LDH, bei einem Tier zusätzlich einen erhöhten Gallensäure-Wert. Die Lactat-Dehydrogenase kommt ubiquitär im Zytoplasma der Zellen vor, sie ist unspezifisch, wenig sensitiv und hat eine kürzere Halbwertszeit als ASAT, so dass ein geringgradiger LDH-Anstieg stets kritisch betrachtet werden sollte.

In den vorliegenden Untersuchungen konnten entsprechend der veränderten Leberwerte im Blut wie in Abbildung 23 aufgezeigt gehäuft pathologisch-anatomische Befunde an der Leber erhoben werden ($p < 0,004$), wobei zwischen den Sektionszeitpunkten 1 und 8 Tage nach der letzten Doxycyclinapplikation keine signifikanten Unterschiede festgestellt wurden. Histologisch handelte es sich in einem Fall um eine akute Hepatitis, ansonsten um akut toxische fettige Leberzelldegenerationen, bzw. es konnten histologisch keine Veränderungen nachgewiesen werden. Chronisch degenerative Schäden im Lebergewebe wurden hingegen nicht signifikant häufiger diagnostiziert. Die Entstehung von chronischen Leberschäden im Zusammenhang mit einer 20-tägigen Applikation der 5-fachen Überdosierung ist somit unwahrscheinlich. Dementsprechend beschreibt FLAMMER (2000), dass bei Nymphensittichen, Amazonen und Graupapageien, bei denen nach 45-tägiger Doxycyclinapplikation Nebenwirkungen in Form einer akuten Hepatitis mit Apathie, Anorexie, gelber Harnsäure und Diarrhoe auftraten, die Symptome 2-5 Tage nach Absetzen des Doxycyclins verschwanden.

Aber auch im Rahmen einer reaktivierten Herpesvirus-Virämie könnten Leberschäden zu einer Änderung der Harnsäurefarbe nach gelb führen. Es wurden in der vorliegenden Studie gruppenübergreifend Veränderungen in der Schnabelhöhle in Form von multifokal submiliaren weiß-gelben, nicht ohne Substanzverlust lösaren Auflagerungen am Rachendach beobachtet, eine klinische Symptomatik bei Taubenherpesvirusträgern (HOOIMEIJER 2006). Ein wichtiger Faktor für die Vermehrung von Herpesviren ist Stress, zum Beispiel ausgelöst durch das Handling der Tauben bzw. die punktuelle Kropfreizung bei Medikamentenapplikation mittels einer Knopfsonde. Insbesondere erhöhte GGT-Werte können ein möglicher Hinweis auf eine reaktivierte Herpesvirusinfektion sein (FUDGE 2000). Da die Ausprägung der Rachenveränderungen und die Anzahl der betroffenen Tiere im Verlauf der Untersuchungen in allen Gruppen gleich blieb, ist eine akute Virusvermehrung jedoch unwahrscheinlich. Auch lagen die GGT-Werte der Tauben aus der Placebogruppe an allen Untersuchungstagen im Referenzbereich.

Bezüglich des Blutbildes konnten in den vorliegenden Untersuchungen an Brieftauben, übereinstimmend mit anderen Studien bei Vögeln (FLAMMER et al. 2001) keine signifikanten

Veränderungen wie Leukozytosen, atypische Lymphozyten, toxische Veränderungen an Granulozyten unter Doxycyclinapplikation (KAPUSNIK-UNER et al. 1996) festgestellt werden.

Bei der Auswertung der Organgewichte zeigte sich, dass mit Ausnahme der Milz ($p < 0,228$) die Tauben der Fünffachdosisgruppe im Mittel signifikant (Leber: $p < 0,017$, Niere: $p < 0,001$, Herz: $p < 0,0001$) geringere Gewichte von Leber, Herz und Niere aufwiesen (Tabelle A.33 des Anhangs).

Die erhobenen Befunde bei einzelnen Tieren der übrigen Dosisgruppen, insbesondere die im Zusammenhang mit der Leber sowie mit gelber Harnsäure stehenden, waren so mit größter Wahrscheinlichkeit nicht durch Doxycyclin sondern vermutlich durch Legeaktivität, Stress (Handling, Einzeltierhaltung) und eine mögliche zugrundeliegende Herpesvirus-Infektion (multifokal submiliare weiße, nicht ohne Substanzverlust lösbare Herde am Rachendach) verursacht.

Weitere Einzelbefunde sind im Zusammenhang mit individuellen Dispositionen bei den jeweiligen Tieren zu sehen, da es sich bei den Versuchstieren um geschlechtsreife Tauben aus konventionellen Zuchten handelte und nicht um SPF-Tiere.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass entsprechend anderer Studien (PADILLA 2005) auch in dieser Studie bei 20-tägiger oraler Applikation der Therapiedosis von Doxycyclin (30 mg/kg KM pro Tag) keine akuten oder chronischen Nebenwirkungen des Präparates auf die Tiergesundheit (Adspektion, klinische Untersuchung, klinisch-chemische und hämatologische Blutuntersuchung, pathologische Untersuchung) zu erkennen waren. Weiterhin zeigten die Tiere keine negative Beeinflussung des Wohlbefindens. Die Körpermassen sowie die Futter- und Wasseraufnahme bei der Applikation der Therapiedosis schwankten im physiologischen Bereich und es waren keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe erkennbar. Ebenfalls keine Nebenwirkungen auf die Tiergesundheit sowie das Wohlbefinden der Tiere traten bei der Eineinhalbfachdosisgruppe und Doppeldosisgruppe von Doxycyclin auf; im Gegensatz zu Studien bei Papageienvögeln (FLAMMER 2000).

Eine gute Verträglichkeit von Doxycyclin bei der Zieltierart Brieftaube und oraler Applikation wurde so bei 20-tägiger Applikation und bis zur doppelten Therapiedosis (60 mg/kg KM pro Tag) im Rahmen dieser Studie bestätigt. Eine höhere Überdosierung sollte nach den vorliegenden Ergebnissen vermieden werden, da dies zur Schädigung der Leber der Tauben führt. Brieftauben, die einer Doxycyclin-Behandlung über das Trinkwasser unterzogen werden, sollten wegen der individuell und haltungsbedingt schwankenden Trinkwasseraufnahme auf Anzeichen einer Doxycyclin-Intoxikation beobachtet werden, wie Apathie, Inappetenz, gelb-grüne Harnsäure. Treten Intoxikationserscheinungen auf, sollte die Doxycyclin-Therapie abgebrochen werden.

5.6 Begründung der Eignung von Doxycyclin zur Behandlung der *Chlamydophila psittaci*-Infektion der Brieftaube

Es wurde keine eigene Studie zur Überprüfung der klinischen Wirksamkeit von Doxycyclin zur Behandlung der *Chlamydophila psittaci*-Infektion der Brieftaube durchgeführt. Infektionen mit *Chlamydophila psittaci* sind bei über 100 Vogelarten beschrieben, die häufigsten Berichte liegen aber von Papageienvögeln, Tauben und Puten vor (ANDERSEN und VANROMPAY 2003).

Generell stellen Chlamydien (*Chlamydophila* spp.) unter Brieftauben weit verbreitete Erreger dar. So konnten mittels FITC-markierten monoklonalen Antikörpern nach Anzüchtung in BGM-Zellkulturen bei 28,2 % klinisch gesunder Tauben Chlamydien-Antigene nachgewiesen werden. Dieser Prozentsatz liegt in etwa gleich hoch wie der von erkrankten oder gestorbenen Psittaziden (22,2 %). Der Nachweis mittels amtlich vorgeschriebener Zellkultur liegt deutlich darunter. Dabei wurden sowohl Kot- und Organproben als auch Konjunktival-, Rachen- und Kloakenabstriche untersucht (UNKRIEG 1995).

Aufgrund einer derartig weiten Verbreitung des Erregers sowie zeitweise eingeschränkter Diagnostikmöglichkeiten intra-vitam (diskontinuierliche Erregerausscheidung) war die Zusammenstellung einer eindeutig negativen Kontrollgruppe nicht möglich. Desweiteren und es hätte auf SPF-Tauben zurückgegriffen werden müssen, welche allerdings zum Zeitpunkt der Untersuchung noch nicht kommerziell erhältlich waren (Daisy, Vanrompay, Leipzig, 2004) und auch bis dato nicht kommerziell erhältlich sind.

Immer wieder wird auf eine diskontinuierliche Ausscheidung des Erregers hingewiesen. Diese ist durch den Replikationszyklus von Chlamydien bedingt und macht die Diagnostik einer Chlamydieninfektion außerordentlich kompliziert, so dass derzeit kein „Goldstandard“ zur Feststellung einer „Chlamydienfreiheit“ existiert (GERLACH 1999; TULLY 2006).

Mittels moderner Diagnostikverfahren (VANROMPAY et. al. 2000; GEENS et al. 2005) gelingt die Unterscheidung einer großen Vielzahl von *Chlamydophila*-Serovaren und -Stämmen. Diese Uneinheitlichkeit seitens des Erregers geht einher mit deutlichen Virulenzunterschieden, aufgrund derer die Festlegung einer einheitlichen Infektionsdosis unmöglich ist (KALETA et al. 1998; Konrad, Sachse, Leipzig, 2004).

Gleichzeitig ist festzustellen, dass die häufigste Form der Chlamydieninfektion subklinisch und persistierend verläuft. Hierbei vermehren sich die vorhandenen Erreger nicht oder nur gering, während das Tier über Jahre gesund und aktiv bleiben kann. Folglich kann für diese Fälle auch keine Inkubationszeit angegeben werden (KALETA 1997).

Auch die Kontrolle des Behandlungserfolges gestaltet sich schwierig. Durch Medikamenteneinsatz ist eine vollständige Elimination der Chlamydien bei Brieftauben möglich, aber nicht

wahrscheinlich. GERBERMANN und JANECEK (1991) argumentieren, dass eine Eradikation des Erregers nicht möglich ist. Die Behandlung einer klinisch manifesten Chlamydiose erfordert den Einsatz eines wirksamen Therapeutikums mit ausreichenden Blut- und Organspiegeln über einen genügend langen Zeitraum mit gleichzeitiger Unterstützung des Immunsystems und flankierenden Hygienemaßnahmen.

Doxycyclin wird als Mittel der Wahl zur Behandlung einer Chlamydophila-Infektion angesehen (FLAMMER 2000; ashp.org). Allgemein anerkannte Voraussetzungen einer erfolgreichen Tetracyclin-Therapie ist das Erreichen eines Plasma-Wirkstoffspiegels $> 1,0 \mu\text{g/ml}$ (AUSFÜHRUNGSHINWEISE ZUR PSITTAKOSE-VERORDNUNG 1987). Bei Untersuchungen an 14 verschiedenen *Chlamydophila-psittaci*-Stämmen wurde für Doxycyclin eine MHK zwischen $0,05\text{--}0,2 \mu\text{g/ml}$ für die in-vitro-Inhibition ermittelt (BUTAYE et al. 1997).

Die Wirksamkeit von Doxycyclin zur Behandlung der Ornithose soll im folgenden im Zusammenhang mit den Ergebnissen der hier durchgeführten Pharmakokinetikstudien, den MHK-Grenzwerten und unter der Zuhilfenahme pharmakologischer Indizes interpretiert werden.

Es ist heute ein akzeptiertes Verfahren anhand der pharmakokinetischen und der pharmakodynamischen Werte von Antibiotika den Erfolg einer Antibiotika-Therapie vorherzusagen. Grundlage hierfür liefern experimentelle Daten aus pharmakokinetischen Studien und MHK-Werte. Es wird dabei die Höhe des jeweiligen Index berechnet, bei der sich ein Therapieerfolg mit hoher Wahrscheinlichkeit einstellt (WIEDEMANN et al. 2003).

Pharmakologische Indizes setzen sich aus einem pharmakokinetischen (PK-) Parameter (z. B. AUC, C_{max}) und einem pharmakodynamischen Parameter zusammen. Für sogenannte konzentrationsabhängige Antibiotika werden die Indizes AUC/MHK und $C_{\text{max}}/\text{MHK}$ verwendet, während für zeitabhängige Antibiotika üblicherweise der Index $T_{>\text{MHK}}$ verwendet wird. Einige Autoren postulieren, dass der Index AUC/MHK universell für alle Antibiotika und alle Erreger anwendbar sei (WIEDEMANN et al. 2003).

SCHWARZ et al. (2003) stufen Doxycyclin als zeitabhängig wirkendes Antibiotikum ein. Für zeitabhängig wirkende Antibiotika muss gewährleistet sein, dass über den Behandlungszeitraum ausreichend lange eine ausreichend hohe Konzentration im Zielgewebe aufrecht erhalten wird. Dabei ist insbesondere die Zeitspanne ($T_{>\text{MHK}}$) entscheidend, innerhalb derer die Wirkstoffkonzentration im Zielgewebe ausreichend weit oberhalb des MHK des zu bekämpfenden bakteriellen Erregers liegt, wogegen eine Dosierungserhöhung keine schnellere bakteriologische Heilung verspricht. Diese Zeitspanne ist dabei von verschiedenen Faktoren abhängig (CRAIG 1995). Je nach Wirkungstyp (bakteriostatisch beziehungsweise bakterizid) und Ausprägung eines postantibiotischen Effekts (erreger- und wirkstoffspezifisch), Schwere der Erkrankung und

5.6 Begründung der Eignung von Doxycyclin zur Behandlung der *Chlamydophila psittaci*-Infektion der Brieftaube

Immunstatus des Patienten muss die MHK ausreichend lange überschritten werden, um eine sichere Elimination des Erregers zu gewährleisten, wobei kürzere Zeitintervalle unterhalb der MHK nach Gegebenheiten des Einzelfalles auch tolerabel sein können (CRAIG 1998; JACOBS 2001). Die $T_{>MHK}$ soll bei zeitabhängigen Antibiotika in der Regel mindestens 70 % der Dauer eines Dosisintervalls betragen (WIEDEMANN et al. 2003).

Bei Brieftauben hat sich im Vergleich zu Papageienvögeln (Behandlung über 45 Tage) gezeigt, dass bereits in einem Behandlungszeitraum von 25 Tagen, innerhalb dem die Tetracyclin-Konzentrationen im Plasma $> 1,0 \mu\text{g/ml}$ liegen, ein Behandlungserfolg zu erzielen ist. Die Zeitspanne von 25 Tagen und die Plasmakonzentration von $> 1,0 \mu\text{g/ml}$ sind in den AUSFÜHRUNGSHINWEISEN ZUR PSITTAKOSE-VERORDNUNG (1987) gesetzlich verankert.

Anhand der gewonnenen pharmakokinetischen Daten können für die angewandte Dosierung des Antibiotikums PK/PD-Grenzwerte berechnet werden. Der Vergleich von diesen errechneten mit den aus der Literatur publizierten Grenzwerten dient dabei der Einschätzung der Wirksamkeit des Antibiotikums. Tabelle 5 zeigt von verschiedenen Autoren vorgeschlagene PK/PD-Grenzwerte, für die ein Behandlungserfolg mit hoher Wahrscheinlichkeit eintritt.

Tabelle 5: PK/PD-Grenzwerte (Quelle: modifiziert aus: WIEDEMANN et al. 2003)

C_{\max}/MHK [dimensionslos]	AUC/MHK [h]	$T_{>MHK}$ [%]	Antibiotika- klasse	Daten ermittelt aus	Autor
8-12	125	50-60	Alle	In-vitro-Modell	MOUTON 2002
10-12	25-30 ¹ 100-125 ²	40-50	Alle	In-vitro-Modell Tiermodell	JACOBS 2001
> 8	40 ³ 100-125 ⁴	40-70	Alle	In-vitro-Modell Tiermodell	SCAGLIONE 2002
> 10	40 ³ 100-125 ⁴		Alle	In-vitro-Modell Tiermodell	WRIGHT et al. 2000

¹:bei leichten Infektionen; ²:bei schweren Infektionen; ³:für grampositive Erreger; ⁴:für gramnegative Erreger

C_{\max} = maximale Plasmakonzentration, MHK = minimale Hemmkonzentration, AUC = Area under the Curve,

$T_{>MHK}$ = Zeitspanne, in der Plasmaspiegel $> MHK$

Bei rechnerischen Schlussfolgerungen aus PK/PD-Grenzwerten muss bei der Angabe „Antibiotikaklasse: Alle“ bedacht werden, dass nicht alle Wirkstoffe gegenüber allen Bakterien inhibitorische Wirkungen entfalten können. Neben intrinsischen Resistenzen spielen hierbei auch die Präsenz von spezifischen Resistenzgenen, Multidrug-Transportersystemen oder Mutationen eine wichtige Rolle (SCHWARZ und CHASLUS-DANCLA 2001). Bei Vögeln sind jedoch nur in seltenen Einzelfällen Resistenzen von *Chlamydophila psittaci* gegenüber Tetracyclinen beschrieben worden (JOHNSON und SPENCER 1983). Laut DORRESTEIN et al. (1990) liegen keine Resistenzen gegenüber Doxycyclin bei Brieftauben vor. Bis heute konnten keine Resistenzen von *Chlamydophila psittaci* gegenüber Doxycyclin nachgewiesen werden (PENA 2007).

Betrachtet man die Grenzwerte für die pharmakologischen Indizes in Tabelle 5, wird deutlich, dass je nach Autor die Werte schwanken. Dies zeigt, dass unterschiedliche Vorstellungen bezüglich der PK/PD-Grenzwerte entstehen und dass eine unkritische Übertragung in manchen Fällen zu Fehlschlüssen führen kann (WIEDEMANN et al. 2003). Da die pharmakokinetischen Werte auf der Basis der Blutplasmaspiegel ermittelt werden, muss bei unterschiedlichen Infektionsorten berücksichtigt werden, in welchem Umfang das Antibiotikum zum Ort der Infektion penetrieren kann; je nach Tierart und Infektion kann auch die Pharmakokinetik stark variieren. Somit herrschen am Infektionsort häufig ganz andere Konzentrationen vor, als in dem als Probenmaterial zugänglichem Plasma, von dessen Wirkstoffspiegel auf Gewebespiegel am Infektionsortextrapoliert wird (WIEDEMANN et al. 2003, SCHWARZ et al. 2003). So ist bei den hier durchgeführten Untersuchungen zu berücksichtigen, dass die Doxycyclin-Gewebespiegel in Leber und Lunge bei Brieftauben bei einem Anreicherungsquotienten von 2 für die Lunge und 7-8 für die Leber oberhalb der Plasmaspiegel liegen und somit bei Erreichen von Soll-Werten im Blutplasma mit ausreichenden Konzentrationen am Infektionsort zu rechnen ist.

Des weiteren muss berücksichtigt werden, dass die minimale Hemmkonzentration des Erregers, die allen PK/PD-Berechnungen zugrunde liegt, stark differieren kann. Obwohl in der DIN 58940 die wesentlichen Schritte zur Bestimmung von MHK-Werten normiert sind, können zum Beispiel durch die unterschiedlichen Bedingungen in-vitro und in-vivo oder die Variation des Erregergehalts große Schwankungen in der MHK entstehen (AMSTERDAM und LORIAN 2005). Da die für die Therapie der Ornithose der Brieftaube vorgeschriebenen Plasmaspiegel von $> 1,0 \mu\text{g/ml}$ die in wissenschaftlichen Arbeiten beschriebenen MHKs von *Chlamydophila psittaci* von 0,01 bis 0,08 $\mu\text{g/ml}$ (SANTOS et al. 1997) und 0,05-0,2 $\mu\text{g/ml}$ (BUTAYE et al. 1997) um ein Vielfaches überschreiten, ist von einer Wirksamkeit von Doxycyclin gegen den genannten Erreger bei dieser Konzentration auszugehen (JAKOBY und GYLSDORFF 1983; VANROMPAY et al. 1995). Zur Beurteilung eines effektiven Medikamenteneinsatzes müssen jedoch grundsätzlich Anpassungen

5.6 Begründung der Eignung von Doxycyclin zur Behandlung der *Chlamydophila psittaci*-Infektion der Brieftaube

an den Schweregrad der Infektion, an die biologischen Besonderheiten von *Chlamydophila psittaci* und den Infektionsort erfolgen.

Trotz dieser Einschränkungen erscheint es unter Berücksichtigung der chemisch-physikalischen Eigenschaften der Pharmakodynamik und der Pharmakokinetik von Doxycyclin bei der Brieftaube und dem Ort der Infektion in Lunge und Leber sowie klinischer Erfahrungen (HENNING und KRAUSS 1986; FLAMMER 2000) für die vorliegenden Untersuchungen sinnvoll, PK/PD-Indizes zur kritischen Dosisfindung bei einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion anzuwenden.

Mit Hilfe der pharmakologischen Indizes ist es möglich, einen PK/PD-Grenzwert zu errechnen, diesen mit empfohlenen PK/PD-Grenzwerten zu vergleichen und daraus folgend *Chlamydophila psittaci* in die Kategorien klinisch sensibel und klinisch resistent zu unterteilen.

Tabelle 6: PK/PD-Grenzwerte für Doxycyclin bei einer Dosierung von zweimal täglich 15 mg/kg KM peroral im Vergleich mit geforderten PK/PD-Grenzwerten

	AUC/MHK	T _{>MHK}
PK/PD-Grenzwert errechnet* / ermittelt	190 h	> 70 %
PK/PD-Grenzwert gefordert	125 h	70 %

* aus Daten der Untersuchungen siehe Kapitel 4.1.2 bei einer Doxycyclin-Dosis von 15 mg/kg 2x tgl. oral:

AUC = 38 h·µg/ml, weitere Angaben siehe Legende Tabelle 3

MHK = 0,2 µg/ml (BUTAYE et al. 1997)

Tabelle 6 zeigt die berechneten PK/PD-Grenzwerte für Doxycyclin bei einer Dosierung von zweimal 15 mg/ kg KM peroral. Ihnen liegen eine C_{max} von 2 µg/ml, eine AUC von 38 h·µg/ml und die minimale Hemmkonzentration von 0,2 µg/ml zugrunde. Der Grenzwert T_{>MHK} wurde aus dem Konzentrations-Zeit-Verlauf des Antibiotikums der Abbildung 9 zur Plasmakinetik während 14-tägiger Applikation und der Abbildung 10 zur Abflutungskinetik nach 14-tägiger oraler Doxycyclinapplikation von 15 mg/kg KM zweimal täglich ermittelt. Die Abbildungen verdeutlichen, dass T_{>MHK} als wichtigster Parameter für zeitabhängige Antibiotika, nicht nur innerhalb eines Zeitraumes von 24 Stunden, sondern über den gesamten Behandlungszeitraum von 14 Tagen mit hoher Wahrscheinlichkeit bei über 70 % und zumeist bei 100 % liegt. Im 14-tägigen Applikationszeitraum wurden zu allen Probeentnahmezeitpunkten Doxycyclin-Plasmaspiegel nicht nur deutlich oberhalb der MHK von 0,2 µg/ml gemessen, sondern auch oberhalb der nach Psittakose-Verordnung geforderten Hemmkonzentration von 1,0 µg/ml gemessen. Lediglich zwei

Einzelwerte verfehlten mit 0,88 µg/ml (als Peak-wert 18.00 Uhr am 7. Applikationstag bzw. als Trough-Wert 15.00 Uhr am 13. Tag) diese Grenze. Aufgrund der zweifachen Gewebeanreicherung von Doxycyclin in der Lunge und 7-facher Anreicherung in der Leber (Kapitel 4.3) ist jedoch auch bei einem Plasmaspiegel von 0,88 µg/ml von ausreichend hohen Wirkspiegeln im Zielgewebe auszugehen. Betrachtet man $T_{>MHK}$ als kumulativen Prozentsatz der Zeit über 24 h in der die Antibiotikum-Konzentration über der MHK des Erregers liegt (WIEDEMANN et al. 2003), so wird aus dem Konzentrations-Zeit-Verlauf (Abbildung 10) nach der letzten Doxycyclin-Gabe der 14-tägigen Applikation von 15 mg/kg KM zweimal täglich ersichtlich, dass auch bei Abflutung des Wirkspiegels die Antibiotikumkonzentration nach 24 h noch deutlich über der geforderten MHK liegt ($T_{>MHK} = 100\%$).

Da es sich um eine Abflutungskinetik handelt ist anzumerken, dass bei Fortsetzung der Therapie (Tagesdosis 30 mg/kg KM) den Brieftauben nach 12 h wieder eine orale Dosis von 15 mg/kg KM verabreicht worden wäre. Es hätten sich in diesem Fall im Zeitraum von 12 bis 24 h wieder höhere Doxycyclin-Plasmaspiegel eingestellt.

Ähnlich wie bei Verteilung der Tagesdosis von 30 mg/kg KM auf zwei Einzeldosen, ist bei Trinkwasserapplikation aufgrund der über den Tag verteilten Trinkwasseraufnahme mit konstant hohen Plasmaspiegeln oberhalb der MHK von 0,2 µg/ml zu rechnen. Abbildung 12 bestätigt für die Trinkwassermedikation mit 750 mg/l Doxycyclin über 10 Tage eine $T_{>MHK}$ von 100 %. Selbst bei schwankender Trinkwasseraufnahme ist infolge der langen Eliminationshalbwertszeit von 12,5 h nicht von einem abruptem Abfall der Plasmaspiegel in den subtherapeutischen Bereich auszugehen. Zum anderen liegen aufgrund der ausgeprägten Gewebeanreicherung von Doxycyclin (vergleiche Kapitel 4.3: Anreicherungsfaktor 2 für die Lunge und 7 für die Leber) auch bei kurzen subtherapeutischen Fenstern im Plasmaspiegelverlauf ausreichend hohe Wirkspiegel im Zielgewebe vor.

Die so ermittelten PK/PD-Grenzwerte lassen die Schlussfolgerung zu, dass *Chlamydophila psittaci* gegenüber einer oralen Dosis von 30 mg/kg KM pro Tag bei Brieftauben klinisch sensibel einzustufen ist und sich ein Therapieerfolg mit hoher Wahrscheinlichkeit einstellt.

Schlussfolgernd kann anhand der Ergebnisse der in dieser Studie beschriebenen Versuche das untersuchte Doxycyclin-Präparat in der täglichen Dosierung von 30 mg/kg KM zur oralen Applikation bei Brieftauben für die Ornithose-Therapie als geeignet beurteilt werden. Unter kontrollierten Versuchsbedingungen (Einzelkäfighaltung, 22 °C) wurden beim Angebot von Doxycyclin-haltigem Trinkwasser in der Konzentration von 750 mg/l (berechnet als Doxycyclin-Base; das entspricht 866 mg/l als handelsübliches Doxycyclin-Hyclat) von den Brieftauben mittlere Volumina von $36,9 \pm 9,3$ ml/kg KM und somit mittlere Tagesdosen von $27,8 (\pm 7,1)$ mg/kg KM aufgenommen. Die Akzeptanz des gelösten Doxycyclin-Präparates ist als gut zu bewerten. Die

5.6 Begründung der Eignung von Doxycyclin zur Behandlung der *Chlamydophila psittaci*-Infektion der Brieftaube

Mittelwerte der resultierenden Doxycyclin-Plasmaspiegel lagen zu jedem gemessenem Zeitpunkt oberhalb 1 µg/ml. Dadurch bestätigt sich die Dosis von 30 mg/kg KM pro Tag für den effektiven Einsatz zur Ornithosetherapie. Zur Vermeidung einer Doxycyclin-Intoxikation aufgrund einer erhöhten Wasseraufnahme unter Feldbedingungen wird empfohlen, im Zusammenspiel von Taubenzüchtern und behandelnden Tierärzten je nach Trinkwasseraufnahme der Brieftauben die Lösungskonzentration des Doxycyclin-medikierten Trinkwassers anhand folgender Formel zu berechnen:

$$\text{Lösungskonzentration [mg/l]} = \frac{\text{Doxycyclindosis 30 mg/kg KM}}{\text{Wasseraufnahme [l/kg KM]}}$$

Ein gleichzeitiger Zusatz von Zitronensäure, der nach Auflösen des Pulverpräparates eine Trinkwasser-Konzentration von 1,0 g Zitronensäure(wasserfrei)/l ergibt, ist dabei unverzichtbar für die volle Löslichkeit und damit Verfügbarkeit von Doxycyclin.

Es ist davon auszugehen, dass mit dieser Tagesdosis von 30 mg/kg KM therapeutisch wirksame Konzentrationen im Zielgewebe, unter Berücksichtigung pharmakokinetischer Parameter und toxischer Wirkungseigenschaften sowie bei vertretbaren praxisrelevanten Behandlungsbedingungen erreicht werden können.

Da bisher keine ausreichenden Erfahrungen für den Einsatz von Doxycyclin-mediziertem Trinkwasser bei Brieftauben unter Feldbedingungen vorliegen, wird sowohl im Hinblick auf die Gefahr der akzidentellen Überdosierung aufgrund von erhöhter Trinkwasseraufnahme, als auch im Hinblick auf die therapeutische Effektivität ein konsequentes Monitoring der Tiere während der Behandlung empfohlen. Wöchentliche klinische Untersuchungen, stichprobenartige Überprüfung von ASAT und Gallensäuren sowie Tests zur Erfassung der Ausscheidung von *Chlamydophila psittaci* nach der Behandlung optimieren das therapeutische Management.

6 Zusammenfassung

Eva-Maria Weilacher

Untersuchungen zur Pharmakokinetik und Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben nach oraler Applikation

Klinik für Vögel und Reptilien und Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht im März 2009

110 Seiten, 29 Abbildungen 6 Tabellen, 200 Literaturangaben, 1 Anhang

Schlüsselwörter: Ornithose, Brieftauben, Doxycyclin, orale Applikation, Pharmakokinetik

In den letzten Jahren zeichnet sich bei der Behandlung der Ornithose der sportlich genutzten Brieftaube die Entwicklung ab, anstelle der traditionellen intramuskulären Applikation von Doxycyclin eine orale Applikation über das Trinkwasser vorzuziehen, wofür bisher eindeutig experimentell belegte Dosierungsschemata fehlen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, ein oral zu verabreichendes Doxycyclin-Präparat auf seine Pharmakokinetik und Verträglichkeit bei Brieftauben zu untersuchen und ein geeignetes Dosierungsregime für die Trinkwasserapplikation zur Behandlung der Ornithose zu etablieren.

Die anzuwendende orale Therapiedosis wurde in verschiedenen Schritten ermittelt. Zuerst wurde die Plasmakinetik von Doxycyclin nach einmaliger intraingluvialer Applikation von 60 mg Doxycyclin/kg KM bei einer Gruppe von 15 Brieftauben gemessen, um die gastrointestinale Resorption zu bewerten und pharmakokinetische Daten zu berechnen. Im zweiten Teil der Untersuchungen sollte an einer Gruppe von 36 Brieftauben überprüft werden, ob mit einer oralen Dosis von 30 mg Doxycyclin-Hyclat/ kg KM pro Tag, verteilt auf zwei Dosen zu 15 mg/kg KM, über einen Zeitraum von 14 Tagen Plasmaspiegel oberhalb 1,0 µg/ml bei geringen Fluktuationen erreicht werden können. Außerdem wurden in diesem Versuch Gewebespiegel von Doxycyclin in den Zielorganen von *Chlamydophila psittaci* (Lunge und Leber) von 12 Tauben jeweils 2 und 5 Stunden nach der letzten Doxycyclin-Applikation gemessen. In weiteren Untersuchungen sollten die Akzeptanz von Doxycyclin-supplementiertem Trinkwasser durch die Brieftauben sowie die daraus resultierenden Doxycyclin-Plasmaspiegel getestet werden. Dazu wurden in einem orientierendem Versuch 4 Tieren über 3 Tage Doxycyclin-supplementiertes Trinkwasser in der Konzentration von 800 mg/l Doxycyclin, anschließend in einem Hauptversuch 18 Brieftauben über 10 Tage supplementiertes Trinkwasser in der Konzentration von 750 mg/l angeboten, dem jeweils 1,0 g Zitronensäure/l beigemischt war. Die Verträglichkeit von Doxycyclin bei Brieftauben wurde im

letzten Teil der Studie überprüft. Jeweils 12 Brieftauben wurden 5 Versuchsgruppen zugeteilt. Über einen Zeitraum von 20 Tagen wurden jeder Taube täglich Doxycyclin-Lösungen in folgenden Dosierungen oral appliziert: 0 mg/kg (Placebogruppe), bzw. 30 mg/kg, bzw. 45 mg/kg, bzw. 60 mg/kg, bzw. 150 mg/kg KM; die Dosis wurde auf zwei gleiche Mengen pro Tag verteilt. Mittels klinischer, blutchemischer, hämatologischer und pathologischer Untersuchungen wurde der Gesundheitsstatus der Tiere überwacht.

Es zeigte sich, dass Doxycyclin nach oraler Gabe von 60 mg/kg KM an Brieftauben gut aus dem Gastrointestinaltrakt resorbiert wurde. Eine maximale Plasmakonzentration von 8,1 µg/ml wurde 6 h post applicationem erreicht und es wurde eine Plasmahalbwertszeit von 11,3 h ermittelt. Die Plasmaspiegel erwiesen sich in Anbetracht des angestrebten Wertes von 1,0 µg Doxycyclin/ ml Plasma zur Ornithosetherapie als ausreichend hoch. Bei Gabe von 30 mg Doxycyclin/kg KM pro Tag, verteilt auf 2 gleiche Einzeldosen, über einen Zeitraum von 14 Tagen, wurden maximale Plasmakonzentrationen von durchschnittlich 2,4 µg/ml, minimale Plasmakonzentrationen von im Mittel 1,8 µg/ml gemessen. Die Versuchsergebnisse bestätigen, dass die verabreichte Dosis ausreichend ist, um mittels oraler Applikation einen Plasmaspiegel von > 1,0 µg/ml, entsprechend den Anforderungen der PSITTAKOSE-VERORDNUNG (2005), zu gewährleisten. Noch ausgeprägter als im Plasma, reicherte sich das stark lipophile Doxycyclin in den Zielgeweben Lunge und Leber zum zwei-(Lunge) bis 7-fachen (Leber) gegenüber dem Blutplasma an. Im dritten Teil der Untersuchungen wurde mit einer täglichen durchschnittlichen Aufnahme von 37 ml/kg KM Doxycyclin-medikierten Trinkwassers (Konzentration von 750 mg Doxycyclin/ l) eine gute Akzeptanz des Präparates beobachtet. Während die Mittelwerte der Doxycyclin-Plasmaspiegel sich immer oberhalb der angestrebten 1,0 µg/ml befanden, verfehlten einzelne Tiere, jedoch nur in der ersten Hälfte des Applikationszeitraumes, an einzelnen Messzeitpunkten knapp diese Grenze. Die Supplementierung des Trinkwassers mit Zitronensäure erwies sich als notwendig, um die Ausfällung von Doxycyclin durch mehrwertige Kationen im Leitungswasser zu verhindern. Eine ausgezeichnete Verträglichkeit von Doxycyclin bei der Zieltierart Brieftaube und oraler Applikation konnte bei 20-tägiger Applikation bis zur 2-fachen Überdosierung (60 mg/kg KM pro Tag) bestätigt werden. Eine höhere Überdosierung ist zu vermeiden, da in der Fünffachdosisgruppe (150 mg/kg KM pro Tag) Nebenwirkungen in Form von Regurgitieren und Leberbelastungen mit Polydipsie, Polyurie, Körpermasseverlust und einem Anstieg der Leberenzyme auftraten.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass anhand der vorliegenden Untersuchungsergebnisse bei Brieftauben eine tägliche orale Dosis von 30 mg/kg KM Doxycyclin über das Trinkwasser zu wirksamen Blutplasma- und Gewebespiegeln führt, bei guter Verträglichkeit, und somit zur Ornithosetherapie empfohlen werden kann. Eine mehr als 2-fache, akzidentelle Überdosierung des Präparates ist zu vermeiden.

7 Summary

Eva-Maria Weilacher

Study on the pharmacokinetics and tolerance of doxycycline in racing pigeons after oral administration

Clinic for Birds and Reptiles and Institute of Pharmacology, Pharmacy and Toxicology
Faculty of Veterinary Medicine, Universität Leipzig, Germany

Submitted in March 2009

110 pages, 29 figures, 6 tables, 200 references, 1 appendix

Key words: Ornithosis, racing pigeons, doxycycline, oral administration, pharmacokinetics

In recent years, there has been an increasing trend in the treatment of ornithosis in racing pigeons from the traditional intramuscular administration of doxycycline towards an oral administration via drinking water for which there is still a lack of experimentally proved dose regimens.

The aim of the study was to analyse the pharmacokinetics and the tolerance of doxycycline in pigeons following oral administration in order to establish an appropriate dose regimen for the administration via drinking water for the treatment of ornithosis.

In dose range finding studies first, the plasma kinetics of doxycycline were investigated after single intravenous administration of 60 mg doxycycline/kg b.w. to a group of 15 racing pigeons in order to assess the absorption from the gastrointestinal tract and to calculate pharmacokinetic data.

A second study with 36 pigeons was performed to find out if a plasma level higher than 1,0 µg/ml with only small fluctuations could be reached over a time period of 14 days with a daily oral dose of 30 mg doxycycline-hydrochloride/kg b.w., divided in equal doses of 15 mg/kg b.w. each.

Additionally, the tissue levels of doxycycline in the targeted organs of *Chlamydothrips psittaci* (lungs and liver) of 12 pigeons were determined 2 and 5 hours after the last administration of doxycycline.

In further studies, the acceptance of doxycycline supplemented drinking water by pigeons was observed and the resulting doxycycline plasma levels were measured. In an initial test, 4 birds were given doxycycline supplemented drinking water at a concentration of 800 mg/l doxycycline over 3 days. Then, in the main test of 10 days, 18 birds were given doxycycline supplemented drinking water at a concentration of 750 mg/l with addition of 1,0 g/l citric acid.

The tolerance of doxycycline in racing pigeons was tested. 60 pigeons were divided into 5 equal dose groups. Over a period of 20 days, each pigeon was given a doxycycline solution at a dose of 0 mg/kg (placebo group), 30 mg/kg, 45 mg/kg, 60 mg/kg or 150 mg/kg b.w., respectively. These doses were divided into two equal parts per day. The health status of the birds was monitored by

7 Summary

clinical examination, blood chemistry, haematology and gross and histological pathological examination.

It was shown that doxycyclin was well absorbed from the gastrointestinal tract of the pigeons after an oral dosage of 60 mg/kg b.w. A maximum plasma concentration of 8.1 µg/ml was reached 6 hours after administration and a plasma half-life of 11.3 h was estimated. The plasma levels reached proved to be relatively high with respect of the required level of 1,0 µg doxycyclin /ml plasma considered as necessary for ornithosis therapy.

At a daily oral dosage of 30 mg doxycyclin/kg b.w. divided into 2 equal doses over a time period of 14 days, mean peak-values in the plasma of 2.4 µg/ml and mean trough-values in the plasma of 1.8 µg/ml were measured. These results confirm that this dose regimen is sufficient to ensure, over the entire medication period, a doxycyclin-plasma level of > 1,0 µg/ml which is in accordance to the legal regulations of psittacosis and ornithosis.

When compared to the plasma levels, the strongly lipophilic doxycyclin was accumulated in the target tissues of the lungs and the liver by twofold and sevenfold, respectively.

At an average daily consumption of 37 ml/kg b.w. of medicated drinking water, the medication was well accepted at a dosage of 750 mg doxycyclin/l drinking water. While the mean doxycyclin-plasma level remained above the required value of 1,0 µg/ml, some birds failed to maintain this over the entire treatment period. This, however, occurred to a minor extent and only during the first part of the treatment. Supplementing the drinking water with citric acid proved to be necessary in order to prevent the precipitation of doxycyclin by polyvalent cations in tap water.

From our results, it can be assumed that the tolerance of doxycycline for racing pigeons after oral administration for 20 days is excellent up to a twofold overdose (60 mg/kg b.w. per day). A higher dosage should be avoided, as side effects such as regurgitation and liver damage including polydipsia, polyuria, loss of body weight, and a rise of liver enzymes were observed in the group administered the fivefold overdose.

Summarizing, it can be concluded that the oral administration of doxycyclin to racing pigeons at a daily dose of 30 mg/kg b.w. via drinking water produced clinically effective plasma and tissue concentrations of the antibiotic, showed a good tolerance and thus can be recommended for ornithosis therapy. An accidental overdose of more than twice the therapeutical dose should be avoided.

8 Literaturverzeichnis

Anon. asph. org [homepage on the Internet]. Bethesda, MD: American Society of Health-System Pharmacists; c2007 [cited 2007 May 29]. Available from: <http://www.asph.org/emergency/doxycycline.pdf>

Anon. Ausführungshinweise zur Verordnung zum Schutz gegen Psittakose und Ornithose für die Bundesrepublik Deutschland vom 26. Okt. 1987.

In: Geissler A, Rojahn A, Stein H, Hrsg. Sammlung tierseuchenrechtlicher Vorschriften 2001, Band 1. Starnberg: Verlag R. S. Schulz.

Anon. Evaluation of the safety of veterinary medical products for the target animals. Direktive 81/852/EEC (1. Sept. 1994).

Anon. Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln die Bundesrepublik Deutschland vom 12. Dez. 2005. BGBl. I S. 3394 (12. Dez. 2005).

Anon. Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Mensch für die Bundesrepublik Deutschland vom 1. Jan. 2001. BGBl. I S. 1045 (1. Jan. 2001).

Anon. Grundsätze der guten Laborpraxis (GLP).

Anhang 1 (zu § 19a Abs.1) Chemikaliengesetz für die Bundesrepublik Deutschland vom 8. Mai 2001. BGBl. I S. 844-854 (8. Mai 2001).

Anon. Guidelines for good clinical practice (GCP) (2003)

emea.europa.eu [homepage on the Internet]. London: European Medicines Agency.; c1995-2008 [updated 2008 Nov 28; cited 2003 May 29] Available from: <http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/ich/013595en.pdf>

Anon. rote-liste.de [homepage on the Internet]. Frankfurt/ Main: Rote Liste[®] Service GmbH. Arzneimittelverzeichnis für Deutschland; c2008 [cited 2008 Aug 19] Available from: <http://www.rote-liste.de/Online>

Anon. Verordnung über die meldepflichtigen Tierseuchen für die Bundesrepublik Deutschland vom 20. Dez. 2005. BGBl. I S. 3516 (20. Dez. 2005).

Anon. Verordnung zum Schutz gegen Psittakose und Ornithose für die Bundesrepublik Deutschland vom 20. Dez. 2005. BGBl. I S. 3531 (20. Dez. 2005).

Anon. vetidata.de [homepage on the Internet]. Leipzig: Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung, Toxikologie und Arzneimittelrecht; c2008 [updated 2008 Sep 05; cited 2008 Nov 18] Available from: <http://www.vetidata.de>

Abu-Basha EA, Idkaidek NM, Hantash TM. Pharmacokinetics and bioavailability of doxycycline in ostriches (*Struthio camelus*) at two different dose rates.
J Vet Sci. 2006;7:327-32.

Albert A. Avidity of the tetracyclines for cations of metals.
Nature. 1956;177:433-4.

Amsterdam D, Lorian V. Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media.
In: Lorian V, Hrsg. Antibiotics in laboratory medicine. 5. Auflage. Baltimore, Maryland: Williams and Wilkins; 1996. S. 52-111.

Anadón A, Martínez-Larranaga MR, Díaz MJ, Bringas P, Fernández MC, Fernández-Cruz ML, Iturbe J, Martínez MA. Pharmacokinetics of doxycycline in broiler chickens.
Avian Pathol. 1994;23:79-90.

Andersen AA. Serotyping of *Chlamydia psittaci* isolates using serovarspecific monoclonal antibodies with the microimmunfluorescence test.
J Clin Microbiol. 1991;29:707-11.

Andersen AA, Vanrompay P. Avian Chlamydiosis.
Rev Sci Tech. 2000;19:396-404.

Andersen AA, Vanrompay P. Avian Chlamydiosis (psittacosis, ornithosis).
In: Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDonald LR, Swayne DE, Hrsg. Diseases of Poultry. 11. Auflage. Ames, Iowa: Iowa State Press; 2003. S. 863-82.

Archimbault P, Ambroggi G, Joineaud J. La doxycycline chez la volaille: biodisponibilité et passage dans les œufs.

Rev Med Vet. 1983;134(59):291-5.

Aronson AL. Pharmacotherapeutics of the newer tetracyclines.

J Am Vet Med Assoc. 1980;176:1061-8.

Barza M, Brown RB, Shanks C, Gamble, Weinstein I. Relation between lipophilicity and pharmacological behaviour of minocycline, doxycycline, tetracycline and oxytetracycline in dogs.

Antimicrob Agents Chemother. 1975;8:713-20.

Barza M, Schiefe RT. Antimicrobial spectrum, pharmacology and therapeutic use of antibiotics, I: tetracyclines.

Am J Hosp Pharm. 1977;34:49-57.

Baxter P, McKellar QA. Distribution of oxytetracycline in normal and diseased ovine lung tissue.

J Vet Pharmacol Ther. 1990;9:213-22.

Becker R. Pigeons: nutrition.

In: Chitty J, Lierz M, Hrsg. BSAVA Manual of Raptors, Pigeons and Passerine Birds. Gloucester: BSAVA; 2008; S.299-304.

Bethke T. Doxycyclin.

Dts Apotheker Ztg. 1995;135(8):56-9.

Björnsson E, Lindberg J, Olsson R. Liver reactions to oral low-dose tetracyclines.

Scand J Gastroenterol. 1997;157:1421-8.

Blanchard P, Rudhardt M, Farbre J. Behaviour of doxycycline in the tissues.

Chemother. 1975;21(Supplement 1):8-18.

Böcker R. Untersuchungen zum Stoffwechsel von Doxycyclin [Habilitationsschrift. med]. Erlangen/Nürnberg: Univ. Erlangen/Nürnberg; 1984.

Brand CJ. Chlamydial infections in free-living birds.

J Am Vet Med Assoc. 1989;195:1531-5.

Breitenbucher RB, Crowley LV. Hepatorenal toxicity of tetracycline.
Minnesota Med Assoc. 1970;53:949-55.

Bürki F. Psittakose – Ornithose, eine Standortbestimmung.
Wiener Tierärztl Monatsschr. 1970;57:279.

Butaye P, Ducatelle R, De Backer P, Vermeersch H, Remon JP, Haesebrouck F. In vitro activities of doxycycline and enrofloxacin against European *Chlamydia psittaci* strains from turkeys.
Antimicrob Agents Chemother. 1997; 41(12):2800–5.

Chambers HF. Protein synthesis inhibitors and miscellaneous antibacterial agents.
In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, Hrsg. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 11. Aufl. New York: McGraw-Hill Companies; 2005; S. 1173-202.

Coles JDWA. Psittacosis in domestic pigeons.
Onderstepoort J Vet Sci. 1940;15:141-8.

Craig WA. Interrelationship between pharmacokinetics and pharmacodynamics in determining dosage regimes for broad-spectrum cephalosprines.
Diagn Microbiol Inf Dis. 1995;22:89-96.

Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: Rationale for antibacterial dosing of mice and men.
Clin Inf Dis. 1998;26:1-12.

Czeizel AE, Rockenbauer M. Teratogenic study of doxycycline.
Obstet Gynecol. 1997;89:524-8.

De Leenheer AP, Nelis HJCF. Doxycycline determination in human serum and urine by high-performance liquid chromatography.
J Pharmaceu Sci. 1979;68:999-1002.

Diaz-Figueroa O, Tully TN, Ritchie BW, Ciembor P, Morgan T, Walden M, Mitchell MA. Validating 21-day doxycycline and azithromycin treatments for *Chlamydia psittaci* in companion avian species.

Proceedings of the Association of Avian Veterinarians; 2006; U.S.A. San Antonio; S. 25-6.

Dorrestein GM. Studies on pharmacokinetics for some antibacterial agents in homing pigeons (*Columba livia*) [Dissertation med. vet]. Utrecht: Univ. Utrecht; 1986.

Dorrestein GM. Pharmacokinetics of Baytril in homing pigeons after different administration routes. Tagungsbericht IV. Tagung Vogelkrankheiten; 1988; München; S. 226-8.

Dorrestein GM. Avian chlamydiosis therapy.

Sem Avian Exotic Pet Med. 1993;2:23-9.

Dorrestein GM, Buitelaar MN, Wiggelinkhuizen JM. Pharmacokinetische Aspekte von Antibiotika bei Volierenvögeln und Tauben.

Tagungsband II. Tagung Krankheiten der Vögel; 1981; München; S. 100-13.

Dorrestein GM, De Bruijne JJ, Buitelaar MN. Bioavailability, tissue distribution, muscle injury and effects on serum enzyme activity after parenteral administration of doxycycline to pigeons (*Columba livia*).

In: Dorrestein GM, Hrsg. Studies on pharmacokinetics of some antibacterial agents in homing pigeons (*Columba livia*) [Dissertation med. vet]. Utrecht: Univ. Utrecht; 1986a; Chapter VIII; S. 103-38.

Dorrestein GM, Van Gogh H, De Wit P. Blood levels of certain drugs administered via drinking water to homing pigeons (*Columba livia*).

Tagungsbericht V. Tagung Vogelkrankheiten; 1986b; München; S. 73-89.

Dorrestein GM, Welink J, Haagsma N. Pharmacokinetic differences for doxycycline between racing pigeons (*Columba livia*) and collared doves (*Streptopelia decaocto*) and the effect of a salmonella infection.

Tagungsbericht VII. DVG-Tagung der Fachgruppe Geflügelkrankheiten; 1990; München; S. 132-43.

Dorrestein GM, Bruijne JJD, Vulto A. Bioavailability of doxycycline injectables in pigeons.
Acta Vet Scand.1991; Suppl 87:291-3.

Drumev D, Vangelov S, Mutafchieva R, Loseva M, Dzhurov A. Doxycycline hydrochloride administered in the drinking water to poultry.
Vet Med Nauki. 1982;19(9):100-6.

Duan YJ, Souriau A, Mahe AM, Trap D, Andersen AA, Rodolakis A. Serotyping of chlamydial clinical isolates from birds with monoclonal antibodies.
Avian Dis. 1999;43:22-28.

Dyer DC. Pharmacokinetics of oxytetracycline in the turkey: evaluation of biliary and urinary excretion.
Am J Vet Res. 1989;50:522-4.

Edison M. Psittacosis/ avian chlamydiosis.
J Am Vet Med Assoc. 2002;221:1710-12.

Eger K, Hermes M, Uhlemann K, Rodewald S, Ortwein J, Brulport M, Bauer AW, Schormann W, Lupatsch F, Schiffer IB, Heimerdinger CK, Gebhard S, Spangenberg C, Prawitt D, Trost T, Zabel B, Sauer C, Tanner B, Kolbl H, Krugel U, Franke H, Illes P, Madaj-Sterba P, Bockamp EO, Beckers T, Hengstler JG. 4-Epidoxycycline: an alternative to doxycycline to control gene expression in conditional mouse models.
Biochem Biophys Res Commun. 2004;22,323(3):979-86.

Evans EE, Wade LL, Flammer K. Administration of doxycycline in drinking water for treatment of spiral bacterial infection in cockatiels.
J Am Vet Med Assoc. 2008;232:389-93.

Everett KDE. Chlamydia and Chlamydiales: more than meets the eye.
Vet Microbiol. 2000;75:109-26.

Everett KDE, Bush RM, Andersen AA. Emended description of the order *Chlamydiales*, Proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms.

Int J Syst Bact. 1999;49:415-40.

Farbre JJ, Pitton JS, Virieux C, Laurencet FL, Bernhardt JP, Godel JC. La doxycycline-absorption, distribution et excrétion d'un nouvel antibiotique à large spectre chez l'homme.

Schweiz Med Wochenschr. 1967;97:915-26.

Farbre JJ, Milek E, Kalfopoulos P, Mérier G. La cinétique des tétracyclines chez l'homme.

Schweiz Med Wochenschr. 1971;101:625-33.

Fichtl B. Arzneistoffkonzentration im Organismus in Abhängigkeit von der Zeit: Pharmakokinetik im engeren Sinn. Besondere Patientengruppen: Kinder, alte Menschen und Schwangere.

In: Forth W, Henschler D, Rummel W, Förstermann U, Hofmann F, Starke K, Hrsg. Pharmakologie und Toxikologie. 9. Auflage. München: Urban & Fischer Verlag; 2005; S.78-80.

Flammer K. Avian chlamydiosis – observations on diagnostic techniques and use of oral doxycycline for treatment.

Proceedings of the 1st International Conference on Zoological and Avian Medicine; 1987; U.S.A. Turtle Bay Hawaii; S. 149-58.

Flammer K. Treatment of chlamydiosis in exotic birds in the United States.

J Am Vet Med Assoc. 1989;195:1537-40.

Flammer K, Aucoin DP, Whitt D. Preliminary report on the use of doxycycline-medicated feed in psittacine birds.

Proceedings of the Association of Avian Veterinarians; 1991; U.S.A. Chicago; S. 1-5.

Flammer K. Chlamydia.

In: Altman RB, Clubb SL, Dorrestein GM, Quesenberry K, Hrsg. Avian Medicine and Surgery. Pennsylvania, Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1997; S. 364-79.

Flammer K. Preliminary notes on treatment of chlamydiosis with doxycycline medicated water. Proceedings of the Association of Avian Veterinarians; 2000; U.S.A. Portland; S. 3-5.

Flammer K, Whitt-Smith D, Papich M. Plasma concentrations of doxycycline in selected psittacine birds when administered in water for potential treatment of *Chlamydophila psittaci* infection. J Avian Med Surg. 2001;15:276-82.

Flammer K, Trogon MM, Papich M. Assessment of plasma concentrations of doxycycline in budgerigars fed medicated seed or water. J Am Vet Med Assoc. 2003;223:993-8.

Flammer K, Papich M. Assessment of plasma concentrations and effects of injectable doxycycline in three psittacine species. J Avian Med Surg. 2005;19:216-224.

Flammer K. Antibiotic Drug Selection in Companion Birds. J Exotic Pet Med. 2006;15:166-176.

Forth W, Henschler D, Rummel W, Hrsg. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 5. Aufl. Zürich: Bibliographisches Institut & F. A. Brockhaus; 1987; S. 1-877.

Frimmer M, Lämmle G, Hrsg. Pharmakologie und Toxikologie. 2. Aufl. Stuttgart – New York: F. K. Schattauer Verlag; 1977; S. 1-243.

Fritzsche K. Ein Beitrag zur Ätiologie, Symptomatologie und Therapie des ansteckenden Schnupfens der Reisetauben und dessen Beziehung zur Ornithose.

Dtsch Tierärztl Wochenschr. 1956;63:11-5.

Fritzsche K, Hürter KP. Serologische und seroepidemiologische Untersuchungen über die Verbreitung der Ornithose bei Brieftaubenzüchtern in der BRD.

Zentralbl Veterinärmed. 1976;23:181-9.

Fritzsche K, Lippelt H, Weyer F. Beiträge zur Epidemiologie, Diagnose und Therapie der Ornithose bei Tauben.

Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 1956;69:61-7.

Fudge AM. A review of methods to detect *Chlamydia psittaci* in avian patients.

J Avian Med Surg. 1997;11:153-65.

Fudge AM. Avian liver and gastrointestinal testing.

In: Fudge AM, Hrsg. Laboratory medicine – Avian and Exotic Pets. Pennsylvania, Philadelphia: W. B. Saunders Company; 2000; S. 45-7.

Fudge AM, Joseph V. Laboratory Assesment of Avian Hepatobiliary Disease.

In: Fudge AM, Hrsg. Laboratory Medicine - Avian and Exotic Pets. Pennsylvania, Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2000; S. 50-5.

Füssle R, Willems WR. Antiinfektiva.

In: Estler C-J, Schmidt H, Hrsg. Pharmakologie und Toxikologie. Stuttgart: Verlag Schattauer; 2007. S. 785-894.

Geens T, Desplanques A, Van Loock M, Bönner BM, Kaleta EF, Magnino S, Andersen AA, Everett KD, Vanrompay D. Sequencing of *Chlamydophila psittaci ompA* gene reveals a new genotype, E/B, and the need for a rapid discriminatory genotyping method.

J Clin Microbiol. 2005;43:2456-61.

Gerbermann H. Die Wirksamkeit von Doxycyclin gegen *Chlamydia psittaci* bei der Maus.

Tagungsbericht Tagung Vogelkrankheiten; 1997; München, S. 31-42.

Gerbermann H, Janeczek F. Chlamydiose bei Vögeln: Gegenwärtige Situation und Alternativen der Diagnose und Bekämpfung.

Prakt Tierarzt. 1991;6:521-8.

Gerbermann H, Pauels FJ. Der Einfluß des Immunsystems auf die Abwehr einer Psittakoseinfektion.

Prakt Tierarzt. 1982;5:458-62.

Gerbermann H, Jakoby JR, Kösters J. Excretion of chlamydia and kinetics of the antibodies in owls (*Strigiformes*) treated with doxycycline.

Tagungsbericht VIII. Tagung Vogelkrankheiten; 1992; München; S. 130-53.

Gerlach H. The biology of *Chlamydia psittaci*.

Sem Avian and Exotic Pet Med. 1993;2(4):154-6.

Gerlach H. Chlamydia.

In: Ritchie B, Harrison G, Harrison L, Hrsg. Avian Medicine: Principles and Application. Florida, Delray Beach: HBD International, Inc.; 1999; S. 984-96.

Gratzl E, Köhler H. Ornithose, Psittakose.

In: Gratzl E, Hrsg. Spezielle Pathologie und Therapie der Geflügelkrankheiten. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag; 1968; S. 364-81.

Grimes J. Enigmatic psittacine chlamydiosis: Results of serotesting and isolation attempts, 1978-1983, and considerations for the future.

J Am Vet Med Assoc. 1985;186:1075-9.

Grimes J. Avian Chlamydiosis.

In Grimes J, Hrsg. Handbook of Zoonoses. 2. Aufl. London: George W. Beran; 1994; S.389-402.

Gylstroff I, Jakoby JR, Gerbermann H. Vergleichende Untersuchungen zur Psittakosebekämpfung auf medikamenteller Basis. II. Mitteilung: Wirksamkeitsprüfung verschiedener Arzneimittel bei unterschiedlichen Applikationsformen bei experimentell infizierten Grünwangenamazonen (*Amazona viridigenalis*).

Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 1984;97:91-9.

Gylstroff I, Grimm F. Blutplasma.

In: Loeffler K, Strauch D, Hrsg. Vogelkrankheiten. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer; 1998; S. 132-4.

Hackstadt T. Identification and properties of chlamydial polypeptides that bind eucaryotic cell surface components.

J Bacteriol. 1986;165:13-20.

Hafez MH. Psittakose/Ornithose.

In: Kaleta EF, Krautwald-Junghanns M-E, Hrsg. Kompendium der Ziervogelkrankheiten. 2. Aufl. Hannover: Schlütersche GmbH&Co.KG; 2003; S. 249-56.

Harper FDW. Pigeons: husbandry and nutrition.

In: Beynon PH, Forbes NA, Harcourt-Brown NH, Hrsg. BSAVA Manual of Raptors, Pigeons and Passerine Birds. Gloucestershire: BSAVA; 1996; S.233-7.

Heinzel G, Woloszcza R, Thomann P. Topfit, Version 2.0. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis System for PC.

Stuttgart, Jena, New York: Gustav Fischer; 1993.

Helmecke S. Retrospektive Analyse diagnostischer Untersuchungsbefunde zu Tauben (*Columba livia* forma *domestica*) aus dem Zeitraum 1979 bis 2004 [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Gießen; 2007.

Henning K. Antibiotikumempfindlichkeit und Resistenzbildung bei Chlamydien unter besonderer Berücksichtigung der Empfindlichkeit von *Chlamydia psittaci* gegen Doxycyclin [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Gießen; 1985.

Henning K, Krauss H. Zur Methodik der Bestimmung der Antibiotikaempfindlichkeit von Chlamydien in vitro.

J Vet Med Series B. 1986;33:447-61.

Hilbrich P. Geflügelhaltung.

In: Hilbrich P, Hrsg. Krankheiten des Geflügels unter besonderer Berücksichtigung der Haltung und Fütterung. Villingen-Schwenningen: Verlag Hermann Kuhn; 1978; S.15-46.

Hoffmann J. Krankheiten der Tauben.

Reutlingen: Verlagshaus Oertel & Spärer; 1969; S. 24-8.

Hooimeijer J. Management of Racing Pigeons.

In: Harrison GJ, Lightfoot TL, Hrsg. Clinical Avian Medicine. Palm Beach: Spix Publishing; 2006; S. 849-60.

Huber WG. Tetracyclines.

In: Booth NH, Mc Donald LE, Hrsg. Veterinary pharmacology and therapeutics. 6. Aufl. U.S.A., Ames: Iowa State University Press; 1988; S. 813-21.

Illes EM. Studies on absorption and topical distribution of oxytetracycline in normal and experimental infected animals.

Acta Vet Acad Sci Hung. 1970;20:139-148.

Ismail MM, El-Kattan YA. Disposition kinetics of doxycycline in chickens naturally infected with *Mycoplasma gallisepticum*.

Br Poultry Sci. 2004;45:550-6.

Iqbal Z, Rikihisa Y. Reisolation of Ehrlichia canis from blood and tissues of dogs after doxycycline treatment.

J Clin Microbiol. 1994;32(7):1644-9.

Jacobs MR. Optimisation of antimicrobial therapy using pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters.

Clin Microbiol Inf. 2001;7:589-96.

Jaffe JM, Poust RI, Feld SL, Colaizzi JL. Influence of repetitive dosing and altered urinary pH on doxycycline excretion in humans.

J Pharmaceu Sci. 1974;63:1256-60.

Jakoby JR, Gylstorff I. Vergleichende Untersuchungen zur Psittakosebekämpfung auf medikamenteller Basis.

Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 1983;96:261-4.

Janeczek F. *Chlamydia psittaci* Diagnostik bei Psittaciformes: Vergleichende Untersuchungen zum Antigennachweis in der Zellkultur und im ELISA sowie zum Antikörperrnachweis in der Komplementbindungsreaktion und im Blocking ELISA [Dissertation med. vet]. München: Univ. München; 1989.

Johnson FWA, Spencer WH. Multiantibiotic resistance in *Chlamydia psittaci* from ducks.

Vet Rec. 1983;112:208.

Johnston WB, Eidson M, Smith KA, Stobierski MG. Compendium of chlamydiosis (psittacosis) control, 1999.

J Am Vet Med Assoc. 1999;214:640-6.

Jung C. Untersuchung zur Akzeptanz, Pharmakokinetik und Verträglichkeit von Enrofloxacin bei Psittaciden sowie zur Frage der therapeutischen Wirksamkeit bei einer experimentellen Infektion mit *Chlamydia psittaci* [Dissertation med. vet]. Gießen: Univ. Gießen; 1992.

Kaleta EF. Aktuelle Fragen der Diagnose und Bekämpfung der Psittakose.
Tierärztl Umsch. 1997;52(1):36-44.

Kaleta EF, Krautwald-Junghanns M-E, Redmann T. Die Psittakose (Chlamydiose) der Vögel und die Notwendigkeit einer staatlichen Bekämpfung.
Tierärztl Praxis. 1998;26(K):295-301.

Kaleta EF und Taday EMA. Avian host range of *Chlamydophila* spp. Based on isolation, antigen detection and serology.
Avian Pathol. 2003;32:435-462.

Klein NC, Cuhna BA. Tetracyclines.
Med Clin North Am. 1995;79:797.

Korbel R. Endoskopie und Biopsie.
In: Kaleta EF, Krautwald-Junghanns M-E, Hrsg. Kompendium der Ziervogelkrankheiten. 3. Aufl. Hannover: Schlütersche GmbH & Co.KG; 2007; S. 96-9.

Kösters J. Chlamydien.
In: Siegmann O, Hrsg. Kompendium der Geflügelkrankheiten. 5. Aufl. Berlin, Hamburg: Paul Parey Verlag, Pareys Studentexte 76; 1993; S. 243-5.
Krautwald M-E, Pieper K, Ruloff R, Schmahl C, Gobel TH, Kaleta EF. Further experience with the use of Baytril in pet birds.
Proceedings of the Association of Avian Veterinarians; 1990; U.S.A., Phoenix; S.226-36.

Krebsz P, Die Erforschungsgeschichte der Ornithosen.
Band 32 der Marburger Schriften zur Medizingeschichte. 1994.

Kroker R. Pharmaka zur Behandlung und Verhütung bakterieller Infektionen.
In: Löscher W, Ungemach FR, Kroker R, Hrsg. Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren. 7. Aufl. Berlin: Parey Buchverlag; 2006, S. 234-78.

Kroker R, Scherkl R, Ungemach FR. Chemotherapie bakterieller Infektionen.

In: Frey H-H, Löscher W, Hrsg. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. 2. Aufl. Stuttgart:Enke Verlag; 2002; S. 353-93.

Kühnert M. Spezielle Toxikologie: Chemotherapeutika – Antibiotikavergiftungen.

In: Kühnert M, Hrsg. Veterinärmedizinische Toxikologie. Jena: Gustav Fischer Verlag; 1991; S. 330-5.

Laczay P, Semjén G, Lehel J, Nagy G. Pharmacokinetics and bioavailability of doxycycline in fasted and nonfasted broiler chickens.

Acta Vét Hung. 2001;49:31-7.

Langhammer P. Vergleich von drei Nachweisverfahren für Chlamydia psittaci – unabhängig vom Vermehrungsstadium- in Abstrichen, Organ- und Kotproben beim Vogel [Dissertation med. vet]. Gießen: Univ. Gießen; 1989.

Laskin AI, Last JA. Tetracyclines.

Antibiotics Chemoth. 1971;17:1-28.

Lienart F, Morissens M, Jacobs P, Ducobu J. Doxycycline and hepatotoxicity.

Acta Clin Belg. 1992;47:205-8.

Lindenstruth H, Frost JW. Enrofloxacin (Baytril®) – eine Alternative in der Psittakoseprophylaxe und -therapie bei importierten Psittaziden.

Dtsch Tierärztl Wochenschr. 1993;100:364-8.

Lumeij JT. A contribution to clinical investigative methods for birds, with special reference to the Racing Pigeon [Dissertation med. vet]. Utrecht: Univers. Utrecht; 1987.

Lüthgen W. Untersuchung zur Ausscheidung von Bedsonien bei latent infizierten Tauben.

Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 1971;84:33-8.

Lüthgen W. Aktuelle Fragen zur Ornithose/ Psittakosebekämpfung.

Ärztl Praxis. 1972;24:233-6.

Lüthgen W. Einsatzmöglichkeiten von Doxycyclin in der Vogelpraxis.
Prakt Tierarzt. 1983;3:244-9.

Lüthgen W, Schulz W, Hauser KW. Versuche zur parenteralen Doxycyclinapplikation bei Kakadus – Möglichkeiten einer Psittakoseprophylaxe?
Prakt Tierarzt. 1979;60(3):233-6.

Lüthgen W, Hrsg. Taubenkrankheiten.
3. Aufl. Verlagshaus Oertel und Spörer, Reutlingen; 2006; S.37-48, 255-9.

Meyer KF. Pigeons and barnyard fowls as possible sources of human psittacosis or ornithosis.
Schweiz Med Wochenschr. 1941;44:1377-9.

Meyer KF Eddie B. Chemotherapy of natural psittacosis and ornithosis. Field trial of tetracycline (polyotic hydrochloride), chlortetracycline and oxytetracycline.
Antibiotics Chemoth. 1955;5:289.
Morange A. De la psittacose, ou infection specialedeterminee par les peruches [Dissertation med. vet]. Paris: Academie de Paris; 1895.

Moulder JW. Chlamydiales.
In: Holt JG, Krieg NR, Hrsg. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 1. Aufl.
Baltimore:Lippincott Williams & Wilkins; 1984; S. 729-39.

Mouton JW. Breakpoints: current practice and further perspectives.
Int J Antimicrob Agents. 2002;19:323-31.

Murakawa T. Tetracyclines – Macrolides – Other Antibiotics.
In: Kuemmerle HP, Murakawa T, Nightingale CH, Hrsg. Pharmacokinetics of antimicrobial agents: Principles-Methods-Applications. Landsberg/Lech: Ecomed Verlagsgesellschaft GmbH & Co. KG; 1993; S. 109-18.

Padilla LR, Flammer K, Miller RE. Doxycycline-medicated drinking water for treatment of *Chlamydophila psittaci* in exotic doves.
J Avian Med Surg. 2005;19:88-91.

Pees M, Hrsg. Psittakose (Papageienkrankheit).

In: Leitsymptome bei Papageien und Sittichen. Stuttgart: Verlag Enke; 2004; S. 24-5.

Pena KMB. Untersuchung der Sensitivität von Chlamydien-Isolaten unter der Verwendung verschiedener antibakterieller Wirkstoffe (Chlortetracyclin, Doxycyclin, Enrofloxacin, Difloxacin, Clarithromycin und Erythromycin) [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Gießen; 2007.

Pennycott T. Pigeons: infectious diseases.

In: Chitty J, Lierz M, Hrsg. BSAVA Manual of Raptors, Pigeons and Passerine Birds. Gloucester: BSAVA; 2008; S.3111-9.

Plumb DC, Hrsg. Doxycycline.

In: Veterinary Drug Handbook. 6. Aufl. Ames, Iowa: Iowa State University Press; 2008; S. 331-4.

Pollet RA, Glatz CE, Dyer DC, Barnes HJ. Pharmacokinetics of chlortetracycline potentiation with citric acid in the chicken.

Am J Vet Res. 1983;44:718-1721.

Powers LV, Flammer K. Dosing Methods for Administration of Doxycycline in Cockatiels.

Proceedings of the Association of Avian Veterinarians; 1997; U.S.A., Nevada, Reno; S. 57-8.

Powers LV, Flammer K, Papich M. Preliminary investigation of doxycycline plasma concentrations in cockatiels (*Nymphicus hollandicus*) after administration by injection or in water or feed.

J Avian Med Surg. 2000;14(1):23-30.

Reinwein H, Walther G. Zur Klinik und Epidemiologie der Psittakose und Ornithose.

Internist. 1960;2:314-21.

Riond JL, Riviere JE. Pharmacology and toxicology of doxycycline.

Vet Human Toxicol. 1988;30(5):431-43.

Riond JL, Riviere JE. Doxycycline binding to plasma albumin of several species.

J Vet Pharmacol Ther. 1989;12:253-60.

Riviere JE, Spoo JW. Tetracycline Antibiotics.

In: Adams HR, Hrsg. Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 8. Aufl. Ames: Iowa State University Press; 2001; S. 828-40.

Rosenblatt, JE, Barret JE, Brodie JL, Kirby WMK. Comparison of in vitro activity and clinical pharmacology of doxycycline and other tetracyclines.

Antimicrob Agents Chemother. 1966;17:134-41.

Salisch H, von Malottki K, Ryll M, Hinz KH. Chlamydial infections of poultry and human health.

World's Poultry Sci J. 1996;52:279-308.

Santos MD, Vermeersch H, Remon JP, Schelkens M, De Backer P, van Bree HJ, Ducatelle R, Haesebrouck F. Pharmacokinetics and bioavailability of doxycycline in turkeys.

J Vet Pharmacol Ther. 1996;19:274-80.

Santos MD, Vermeersch H, Remon JP, Schekens M, De Backer P, Ducatelle R, Haesebrouck F. Administration of doxycycline hydrochlorid via drinking water to turkeys under laboratory and field conditions.

Poult Sci. 1997;76(10):1342-8.

Savin S, Houin G. Clinical pharmacokinetics of doxycycline and minocycline.

Clin Pharmacokinetics. 1988;15:355-66.

Scaglione F. CAGLIONE, F. Can PK/PD be used in everyday clinical practice.

Int J Antimicrob Agents. 2002;19:349-53.

Schach von Wittenau M, Yeary R. The excretion and distribution in body fluids of tetracyclines after intravenous administration to dogs.

J Pharmacol Exp Ther. 1963;40:258-66.

Schach von Wittenau M, Delahunt CS. The distribution of tetracyclines in tissues of dogs after repeated oral administration.

J Pharmacol Exp Ther. 1966;152:164-9.

Schach von Wittenau M, Twomey TM. The disposition of doxycycline by man and dog.
Chemother. 1971;16:217-28.

Schach von Wittenau M, Twomey TM, Swindell AC. The disposition of doxycycline by the rat.
Chemother. 1972;17:26-39.

Schmeer N, Busche R. Seroepidemiologische Untersuchung auf Ornithose und Salmonellose mittels Enzym – Immuntest in Mittelhessischen Taubenbeständen.
Fortschr Veterinärmed. 1983;37:115-20.

Schwarz S, Chaslus-Dancla E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance.
Vet Res. 2001;32:201-25.

Schwarz S, Böttner A, Hafez HM, Kehrenberg C, Kietzmann M, Klarmann D, Klein G, Krabisch P, Kühn T, Luhofer G, Richter A, Traeder W, Waldmann K-H, Wallmann J, Werckenthin C. Empfindlichkeitsprüfung bakterieller Infektionserreger von Tieren: Methoden zur in-vitro Empfindlichkeitsprüfung und deren Eignung in Hinblick auf die Erarbeitung therapeutisch nutzbarer Ereignisse.
Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 2003;116: 353-61.

Scope A. Klinischer Untersuchungsgang.
In: Kaleta EF, Krautwald-Junghanns M.E, Hrsg. Kompendium der Ziervogelkrankheiten. 3. Aufl.Hannover: Schlütersche GmbH & Co.KG; 2007a; S. 61-7.

Scope A. Untersuchung des Blutes.
In: Kaleta EF, Krautwald-Junghanns M.E, Hrsg. Kompendium der Ziervogelkrankheiten. 3. Aufl.Hannover: Schlütersche GmbH & Co.KG; 2007b; S. 86-94.

Shaw DH, Rubin SI. Pharmacologic activity of doxycycline.
J Am Vet Med Assoc. 1986;189:808-10.

Sheridan ME, Clarke GS. Improved high-performance liquid chromatographic determination of doxycycline in serum and urine using solid-phase extraction columns.
J Chromatography B. 1988;434:253-8.

Siegmann O, Kamphues J. Tränkwasser.

In: Siegmann O, Neumann U. Kompendium der Geflügelkrankheiten. 6. Aufl. Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft; 2005; S.46-7.

Siemers NE. Die nested PCR zur Diagnostik und Differenzierung von *Chlamydia psittaci* und *Chlamydia pneumoniae* in Untersuchungsmaterialien von Vögeln und Menschen [Dissertation med. vet]. Gießen: Univ. Gießen; 1999.

Stahlmann R, Lode H. Antibiotika und Chemotherapeutika.

In: Forth W, Henschler D, Rummel W, Förstermann U, Hofmann F, Starke K, Hrsg. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 9. Aufl. München: Urban & Fischer Verlag; 2005; S. 784-827.

Steigbiegel NH, Reed CW, Finland M. Susceptibility of common pathogenic bacteria to seven tetracyclin antibiotics in vitro.

Am J Med Sci. 1968;255:179-95.

Strauß-Theis DC. Nachweis und Differenzierung von *Chlamydophila psittaci* und *Chlamydophila pneumoniae* mittels der nested multiplex Polymerasekettenreaktion in aviären Untersuchungsmaterialien im Vergleich zum Nachweis von Chlamydien mit der erweiterten Immunfluoreszenz [Dissertation med.vet]. Gießen: Universität Gießen; 2005.

Teare JA. ISIS - Physiological Data Reference Values [CD-ROM].

International Species Information System. U.S.A., Apple Valley;1999.

Teichmann B. Tetracyclinblutspiegelbestimmungen bei Nymphensittichen (*Nymphicus hollandicus*) [Dissertation med. vet]. München: Univ. München; 1976.

Traub C. Untersuchungen zur Frage der Wirksamkeit der parenteralen im Vergleich zur oralen Behandlung mit Tetracyclin-Derivaten bei mit dem Psittakose-Erreger infizierten Sittichen und Papageien [Dissertation med. vet]. Gießen: Universität Gießen; 1982.

Tudor DC, Hrsg. Pigeon Health and Disease.

Ames: Iowa State University Press; 1991; S. 1-252.

Tully TN. Update on *Chlamydophila psittaci*.

In: Harrison GJ, Lightfoot TL, Hrsg. Clinical Avian Medicine. Palm Beach: Spix Publishing; 2006; S. 679-80.

Unkrieg AS. Vergleichende Untersuchung über den nachweis von *Chlamydia psittaci* bei Psittaziden, Tauben, Puten und Hühnern mittels BGM-Zellkultur (mit GIMÉNEZ-Färbung), direkter Immunfluoreszenz an Probenmaterial sowie nach Anzüchtung in BGM-Zellkulturen mit anschließender Immunfluoreszenz [Dissertation med. vet]. Gießen: Universität Gießen; 1995.

Vanrompay D, Ducatelle R, Haesebrouck F. *Chlamydia psittaci* infections: a review with emphasis on avian chlamydiosis.

Vet Microbiol. 1995a; 45:93-119.

Vanrompay D, Mast J, Ducatelle R, Haesebrouck F, Goddeeris B. *Chlamydia psittaci* in turkeys: pathogenesis of infections in avian serovars A, B and D.

Vet Microbiol. 1995b;47:245-56.

Vanrompay D, Lublin A, Vanlook M, Mulenga S. Serology of Chlamydiaceae psittaci infections in psittaciformes by use of a recombinant Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: recombinant DNA technology at work.

Sem Avian Exotic Pet Med. 2000;9(1): 43-9.

Vogel K. Die Taube – Biologie, Haltung, Fütterung.

Berlin: VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag; 1980.

Vogel C, Gerlach H, Löffler M. Columbiformes.

In: Ritchie B, Harrison G, Harrison L, Hrsg. Avian Medicine: Principles and Application.

Florida, Delray Beach: HBD International Inc; 1999; S. 1200-17.

Wachendörfer G. Zum Problem der Wirksamkeitskontrolle der Psittakose Prophylaxe bei importierten Psittaciden – Vorschläge zur Koordinierung der Technik bei der Überprüfung von Fäzes.

Dtsch Tierärztl Wochenschr. 1969;76:201-4.

Wachendörfer G. Zur Epidemiologie, Chemoprophylaxe und -therapie der Psittakose.

Dtsch Tierärztl Wochenschr. 1970;77:382-5.

Wachendörfer G. Zur Diagnostik, Chemoprophylaxe und Therapie der Psittakose bei Sittichen und Papageien.

Prakt Tierarzt. 1971;52:604-7.

Wachendörfer G. Epidemiology and control of psittacosis.

J Am Vet Med Assoc. 1973;162:298-9.

Wachendörfer G, Lüthgen W, Ehlkes G, Berger J. Resistance of *Chlamydia psittaci* against chlortetracycline.

Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 1973;86:106-111.

Wachendörfer G. Neuere Erkenntnisse zur Bekämpfung der Psittakose/ Ornithose I und II.

Die Gefiederte Welt. 1983;107:16-8, 47-50.

Weilacher JS. Vibramycin, Pharmakokinetik, Pharmakodynamik und Klinik-Übersichtsbesprechung eines bewährten Breitspektrumantibiotikums.

Kassenarzt. 1981;21:5402-10.

Welling PG, Koch PA, Lau CC, Craig WA. Bioavailability of tetracycline and doxycycline in fasted and nonfasted subjects.

Antimicrob Agents Chemother. 1977;462-9.

Weyer F. Zur Frage der Rolle von Arthropoden als Reservoir des Psittakoseerregers.

Z Tropenmed Parasitol 1970;21:146-53.

Wiedemann B, Barger A, Fuhst C. Pharmakologische Indizes in der Antibiotika-Therapie.

Arzneimittelther. 2003;21:134-40.

Williamson GM. The in vitro activity of Vibramycin (doxycycline).

Chemother. 1968;13:1-6.

Wilson RC, Kemp DT, Kitzman JV, Goetsch DD. Pharmacokinetics of doxycycline in dogs.

Can J Vet Res. 1988;52(1):12-4.

Winkler E, Weih H. Doxycyclin, Ergebnisse von Basisuntersuchungen.

Med Klinik. 1967;33:1257-62.

Wright DH, Brown GH, Peterson ML, Rotschafer JC. Applikation of fluoroquinolone pharmacodynamics.

J Antimicrob Chemother. 2000;46:669-83.

Wyrick PB, Richmond SJ. Biology of Chlamydiae.

J Am Vet Med Assoc. 1989;195:1507-12.

Yoshimura H, Osawa N, Rasa FSC, Hermawati D, Werdiningsih S, Isriyanthi HNMR, Sugimori T. Residues of doxycycline and oxytetracycline in eggs after medication via drinking water to laying hens.

Food Adit Contamination. 1991;8(1):65-9.

Zeh C. Behandlungsversuche bei Psittakose des Nymphensittichs (*Nymphicus hollandicus*) [Dissertation med. vet]. München: Univ. München; 1976.

Zinke AM, Warzecha M, Kummerfeld N. Blutchemische Diagnostik der Organophosphatund Carbamatvergiftungen bei Tauben (*Columba livia dom.*). Bestimmung der Plasma-Cholinesterase-Aktivität nach thermischer bzw. Oxim-induzierter Reaktivierung unter Einsatz eines trockenchemischen Analysensystems.

Tierärztl Praxis Kleintiere. 2001;29:270-5.

9 Anhang

Tabelle A.1: Zeitverlauf des Doxycyclin-Plasmaspiegel [$\mu\text{g/ml}$] bei Brieftauben nach einmaliger oraler Applikation einer Dosis von 60 mg/kg (bezogen auf Doxycyclin-Base)

Zeit [h]	Doxycyclin-Plasmaspiegel [$\mu\text{g/ml}$]							
	1. Wert	2. Wert	3. Wert	4. Wert	5. Wert	6. Wert	MW	SD
0	0,00	0,00	0,00				0,00	0,00
0,5	5,40	2,28	1,78				3,15	1,96
1	3,94	4,31	3,94				4,06	0,21
2	11,44	3,12	5,90				6,82	4,24
4	8,05	3,40	6,81				6,09	2,41
6	12,25	6,19	5,90				8,11	3,59
8	8,27	5,72	6,89				6,96	1,28
12	7,44	5,72	6,23				6,46	0,88
16	5,47	5,20	4,92				5,20	0,28
24	3,61	1,51	2,89				2,67	1,07
36	2,96	1,71	0,87	0,82	1,22	2,02	1,60	0,82
40	1,69	0,88	0,55	1,02			1,04	0,48
48	2,55	0,78	0,28	0,36	0,33	0,50	0,80	0,88
72	0,36	0,14	<BG	<BG			0,15	0,15

<BG = Plasmaspiegel unterhalb der Bestimmungsgrenze von 0,10 $\mu\text{g/ml}$; für die statistische Berechnung mit $\frac{1}{2}$ BG berücksichtigt
 MW = Mittelwerte; SD = Standardabweichung

Tabelle A.2: Intragluviale Applikation von Doxycyclin über 14 Tage in der Dosis von 15 mg/kg, 2mal täglich, an Brieftauben

Peak- und Trough-Werte der Plasmaspiegel von Doxycyclin [$\mu\text{g/ml}$] am 2. Applikationstag

Taube Nr.	Trough 7 Uhr	Taube Nr.	Trough 15 Uhr	Taube Nr.	Peak 10 Uhr	Taube Nr.	Peak 18 Uhr
1	1,27	28	1,04	29	2,27	13	1,20
3	1,34	27	2,52	30	1,89	14	1,68
8	1,26	21	1,43	36	1,36	9	2,95
2	1,43	26	1,47	31	3,49	15	2,09
4	1,38	25	1,38	32	2,20	16	1,65
5	1,54	24	1,32	33	2,61	12	2,10
6	1,39	23	1,31	34	2,01	11	1,65
7	2,18	22	1,20	35	5,59	10	1,95
MW [$\mu\text{g/ml}$]	1,47		1,46		2,68		1,91
SD	0,30		0,45		1,33		0,51

MW = Mittelwerte; SD = Standardabweichung

Tabelle A.3: Intragluviale Applikation von Doxycyclin über 14 Tage in der Dosis von 15 mg/kg, 2mal täglich, an Brieftauben

Peak- und Trough-Werte der Plasmaspiegel von Doxycyclin [$\mu\text{g/ml}$] am 7. Applikationstag

Taube Nr.	Trough 7 Uhr	Taube Nr.	Trough 15 Uhr	Taube Nr.	Peak 10 Uhr	Taube Nr.	Peak 18 Uhr
17	1,99	9	4,84	1	3,45	17	2,50
18	2,86	10	3,79	2	3,16	18	1,93
19	2,93	11	2,00	3	2,64	19	2,18
20	2,34	13	1,18	4	3,13	20	1,69
33	1,80	14	1,30	5	2,11	21	1,58
34	1,63	15	1,23	6	1,66	22	1,40
35	2,48	16	1,63	7	2,25	23	0,88
36	1,75			8	1,40	24	1,06
MW [$\mu\text{g/ml}$]	2,22		2,28		2,48		1,65
SD	0,51		1,45		0,74		0,55

MW = Mittelwerte; SD = Standardabweichung

Tabelle A.4: Intragluviale Applikation von Doxycyclin über 14 Tage in der Dosis von 15 mg/kg, 2mal täglich, an Brieftauben

Peak- und Trough-Werte der Plasmaspiegel von Doxycyclin [$\mu\text{g/ml}$] am 13. Applikationstag

Taube Nr.	Trough 7 Uhr	Taube Nr.	Trough 15 Uhr	Taube Nr.	Peak 10 Uhr	Taube Nr.	Peak 18 Uhr
33	1,43	9	3,60	25	2,70	1	1,78
34	2,43	10	1,95	26	3,54	2	1,62
35	3,17	11	1,55	27	2,71	3	3,66
36	3,12	12	2,12	28	2,16	4	2,35
29	2,09	5	1,18	13	1,47	17	1,59
30	1,33	6	1,00	14	1,71	18	2,07
31	1,50	7	2,19	15	2,01	19	1,28
32	2,58	8	0,88	16	1,97	20	3,34
MW [$\mu\text{g/ml}$]	2,21		1,81		2,28		2,21
SD	0,74		0,88		0,67		0,86

MW = Mittelwerte; SD = Standardabweichung

Tabelle A.5: Intragluviale Applikation von Doxycyclin über 14 Tage in der Dosis von 15 mg/kg, 2mal täglich, an Brieftauben

Abflutungskinetik im Plasma nach der letzten Applikation am 14. Versuchstag

Plasmaspiegel-Einzelwerte von Doxycyclin ($\mu\text{g/ml}$) sowie Mittelwerte und Standardabweichungen von jeweils 4 Tieren pro Zeitpunkt

Zeit p.a. [h]	1.Wert	2.Wert	3.Wert	4.Wert	MW	SD
2	1,74	2,11	1,34	2,14	1,83	0,38
6	0,99	1,44	1,63	1,59	1,41	0,29
12	1,01	1,31	0,7	0,55	0,89	0,34
24	0,57	0,74	0,7	0,73	0,69	0,08
32	0,25	0,46	0,19	0,56	0,37	0,17
48	0,1	0,11	0,16	0,16	0,13	0,03
56	0,22	0,17	0,08	<BG	0,13	0,08
73	0,12	<BG	<BG	<BG	<BG	

<BG = Plasmaspiegel unterhalb der Bestimmungsgrenze von 0,10 $\mu\text{g/ml}$; für die statistische Berechnung mit $\frac{1}{2}$ BG berücksichtigt

MW = Mittelwerte; SD = Standardabweichung

p.a. = post applicationem

Tabelle A.6: Intragluviale Applikation von Doxycyclin über 14 Tage in der Dosis von 15 mg/kg, 2mal täglich, an Brieftauben

Doxycyclin-Konzentrationen in Organproben [$\mu\text{g/g}$] nach Versuchsende, zu den Zeitpunkten 2 und 7 h nach der letzten Applikation

Einzelwerte sowie Mittelwerte und Standardabweichungen von jeweils 6 Tieren pro Zeitpunkt

Zeitpunkt p.a.	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6	MW	SD
Leber 2h	8,98	8,58	7,70	26,31	10,32	23,90	14,30	8,45
Leber 7h	7,70	8,34	17,24	8,91	8,98	7,28	9,74	3,73
Lunge 2h	2,96	3,17	2,83	(33,54)*	7,10	6,10	4,43	2,01
Lunge 7h	2,44	2,41	3,87	2,93	2,67	2,67	2,83	0,54
Zum Vergleich:								
Plasma 2h							1,83	0,38
Plasma 6h							1,41	0,29

* Ausreißerwert nicht für die MW-Berechnung herangezogen

MW = Mittelwerte; SD = Standardabweichung

p.a. = post applicationem

Tabelle A.7: Täglicher Trinkwasserverbrauch [ml], Einzel- und Mittelwerte über 5 Tage von 15 Brieftauben

Taube Nr.	KM [g]	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5
1	491	22	44	66	62	30
2	476	25	38	52	58	50
3	504	10	30	46	36	24
4	506	28	50	96	72	57
5	443	16	20	30	26	20
6	457	30	16	42	36	24
7	498	50	32	46	40	12
8	500	16	10	16	32	26
9	452	14	6	12	15	6
10	459	26	16	28	40	25
11	476	18	20	20	20	18
12	508	25	17	38	41	28
13	549	26	26	18	30	20
14	640	20	16	20	28	12
15	478	12	9	14	21	16
MW [ml]		22,5	23,3	36,3	37,1	24,5
SD		9,7	13,0	23,0	16,1	13,5

MW = Mittelwerte; SD = Standardabweichung

Tabelle A.8: Trinkwasser-Applikation von Doxycyclin über 3 Tage in der Konzentration von 800 mg/l an Brieftauben

Plasmaspiegel von Doxycyclin [$\mu\text{g/ml}$] am Tag 2 und 3 des Trinkwasserangebots, zweimal täglich um 8 Uhr und 16 Uhr sowie am darauffolgenden 4. Tag um 8 Uhr

Plasmaspiegel-Einzelwerte [$\mu\text{g/ml}$] sowie Mittelwerte von jeweils 2 Tieren pro Zeitpunkt

Probenahmezeitpunkte	1.Wert [$\mu\text{g/ml}$]	2.Wert [$\mu\text{g/ml}$]	Mittelwert [$\mu\text{g/ml}$]
1.Tag - vor der Applikation	0	0	0
2.Applikationstag - 8 Uhr	1,51	1,93	1,72
2.Applikationstag - 16 Uhr	2,19	1,13	1,66
3.Applikationstag - 8 Uhr	2,41	2,65	2,53
3.Applikationstag - 16 Uhr	2,01	1,12	1,57
4.Tag (keine Appl.) - 8 Uhr	2,64	2,76	2,70

MW = Mittelwerte

Tabelle A.9: Trinkwasser-Applikation von Doxycyclin über 10 Tage in der Konzentration von 750 mg/l an Brieftauben

Plasmaspiegel von Doxycyclin ($\mu\text{g/ml}$) am Tag 2, 3, 5, 7 und 9 des Trinkwasserangebots, sowie am Tag nach dem Trinkwasserangebot Tag 11, zweimal täglich um 8 Uhr und 16 Uhr

Plasmaspiegel-Einzelwerte ($\mu\text{g/ml}$) sowie Mittelwerte und Standardabweichungen von jeweils 9 Tieren pro Zeitpunkt

	Versuchstag											
	2T 8h	2T 16h	3T 8h	3T 16h	5T 8h	5T 16h	7T 8h	7T 16h	9T 8h	9T 16h	11T 8h	11T 16h
	Plasmaspiegel [$\mu\text{g/ml}$]											
1. Wert	1,27	1,23	1,62	0,79	1,7	1,68	3,35	1,41	1,80	1,54	3,18	1,54
2. Wert	0,93	1,61	1,82	1,38	1,49	4,31	4,31	2,42	2,21	1,70	2,28	1,73
3. Wert	1,78	1,18	2,29	1,92	1,48	1,06	2,33	1,77	3,30	1,06	2,54	2,00
4. Wert	1,15	2,12	2,59	2,26	1,54	3,20	3,66	3,53	3,25	4,64	2,40	2,06
5. Wert	1,05	2,13	3,19	0,68	1,11	3,03	2,73	1,90	1,73	1,80	2,52	1,60
6. Wert	2,32	1,18	0,88	1,74	2,57	0,76	1,14	2,20	2,56	1,66	1,88	1,62
7. Wert	1,16	1,18	1,41	1,68	1,35	1,36	1,15	1,96	1,42	0,93	1,73	1,27
8. Wert	1,46	1,06	1,51	1,42	1,73	1,32	1,77	2,65	2,40	1,88	1,52	1,40
9. Wert	1,00	0,87	1,50	0,77	0,77	1,20	1,15	2,07	2,00	1,44	2,02	1,92
MW	1,29	1,29	1,79	1,35	1,49	1,86	2,20	2,21	2,19	2,02	2,07	1,62
SD	0,46	0,55	0,71	0,56	0,48	1,22	1,28	0,58	0,70	1,17	0,69	0,31

T = Tag; h = Uhr

MW = Mittelwerte; SD = Standardabweichung

Tabelle A.10: Mittelwerte und Schwankungsbreite der zugrundeliegenden Tageswerte der Trinkwasseraufnahme [ml/kg KM] in der Akklimatisationsphase (3 Tage vor Versuch) und während des Versuchs mit Doxycyclin-versetztem Trinkwasser (10 Tage)

Tauben Nr.	MW Trinkwasseraufnahme (Streuung der Tageswerte) in ml/kg KM Akklimatisation	MW Doxycyclin-Trinkwasseraufnahme (Streuung der Tageswerte) in ml/kg KM während des Versuchs
1	40,0 (38,4 – 43,0)	30,8 (21,9 – 49,4)
2	38,6 (34,2 – 43,7)	31,8 (17,1 – 41,8)
3	59,8 (40,2 – 78,3)	44,6 (32,1 – 62,2)
4	49,2 (46,1 – 57,0)	43,2 (35,1 – 59,2)
5	33,2 (30,5 – 38,7)	28,0 (16,3 – 42,8)
6	30,2 (29,8 – 35,7)	27,2 (13,9 – 33,7)
7	70,8 (68,1 – 72,1)	56,4 (42,1 – 72,1)
9	25,0 (25,3 – 30,0)	32,2 (18,4 – 48,4)
10	50,6 (46,3 – 58,7)	32,2 (21,4 – 46,3)
11	31,8 (17,4 – 60,2)	22,2 (11,1 – 31,7)
12	48,8 (43,0 – 55,9)	55,4 (25,8 – 83,9)
13	52,8 (34,2 – 68,3)	36,2 (21,6 – 48,6)
14	33,6 (23,1 – 52,5)	35,8 (23,1 – 54,6)
15	36,4 (32,3 – 47,3)	44,6 (30,1 – 55,9)
16	33,4 (44,6 – 52,7)	32,2 (18,3 – 46,7)
18	44,6 (31,2 – 60,0)	34,6 (17,5 – 44,8)
19	68,0 (61,5 – 80,6)	43,4 (21,8 – 55,5)
20	46,4 (36,1 – 64,3)	33,8 (16,1 – 52,2)
MW	44,1	36,9
SD	13,0	9,3

MW - Mittelwerte; SD – Standardabweichung

Tabelle A.11: Tägliche Futteraufnahme der Kontrollgruppe, Einfachdosisgruppe, Eineinhalbfachdosisgruppe, Doppeldosisgruppe und Fünffachdosisgruppe

Futteraufnahme [g]							
Tag	statistische Maßzahlen	n	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C	Gruppe D	Gruppe E
-5	$\bar{x} \pm s$	12	29 ± 9	33 ± 9	39 ± 8	38 ± 12	31 ± 11
-4	$\bar{x} \pm s$	12	28 ± 8	35 ± 6	37 ± 10	37 ± 11	28 ± 10
-3	$\bar{x} \pm s$	12	35 ± 12	40 ± 9	45 ± 11	45 ± 11	32 ± 8
-2	$\bar{x} \pm s$	12	29 ± 11	37 ± 8	42 ± 10	40 ± 13	31 ± 6
-1	$\bar{x} \pm s$	12	27 ± 10	33 ± 12	40 ± 11	38 ± 11	34 ± 6
0	$\bar{x} \pm s$	12	30 ± 12	39 ± 14	45 ± 11	43 ± 12	33 ± 8
1	$\bar{x} \pm s$	12	29 ± 11	42 ± 9	42 ± 10	41 ± 12	38 ± 8
2	$\bar{x} \pm s$	12	27 ± 8	37 ± 12	41 ± 9	39 ± 12	28 ± 9
3	$\bar{x} \pm s$	12	27 ± 8	37 ± 14	41 ± 12	43 ± 9	32 ± 12
4	$\bar{x} \pm s$	12	30 ± 7	38 ± 13	42 ± 11	40 ± 12	28 ± 8
5	$\bar{x} \pm s$	12	31 ± 8	38 ± 14	42 ± 11	42 ± 13	29 ± 7
6	$\bar{x} \pm s$	12	31 ± 9	41 ± 13	44 ± 11	40 ± 13	33 ± 6
7	$\bar{x} \pm s$	12	29 ± 14	33 ± 12	33 ± 13	32 ± 13	28 ± 8
8	$\bar{x} \pm s$	12	31 ± 10	37 ± 15	39 ± 15	37 ± 11	29 ± 8
9	$\bar{x} \pm s$	12	31 ± 9	39 ± 13	45 ± 11	38 ± 11	30 ± 8
10	$\bar{x} \pm s$	12	28 ± 8	39 ± 13	38 ± 12	35 ± 11	29 ± 7
11	$\bar{x} \pm s$	12	29 ± 8	38 ± 12	40 ± 11	38 ± 10	27 ± 7
12	$\bar{x} \pm s$	12	24 ± 10	37 ± 10	39 ± 10	34 ± 11	28 ± 7
13	$\bar{x} \pm s$	12	28 ± 9	36 ± 11	41 ± 10	38 ± 12	34 ± 9
14	$\bar{x} \pm s$	12	30 ± 9	36 ± 14	37 ± 13	42 ± 11	25 ± 11
15	$\bar{x} \pm s$	12	28 ± 8	40 ± 16	39 ± 12	38 ± 15	32 ± 10
16	$\bar{x} \pm s$	12	34 ± 9	43 ± 16	49 ± 10	47 ± 11	27 ± 8
17	$\bar{x} \pm s$	12	33 ± 10	39 ± 14	41 ± 12	41 ± 13	23 ± 7
18	$\bar{x} \pm s$	12	35 ± 12	44 ± 12	43 ± 9	46 ± 12	21 ± 9
19	$\bar{x} \pm s$	12	29 ± 10	38 ± 10	41 ± 9	40 ± 11	21 ± 9
20	$\bar{x} \pm s$	12	31 ± 10	39 ± 12	42 ± 10	38 ± 13	26 ± 11
21	$\bar{x} \pm s$	6	31 ± 8	44 ± 15	41 ± 12	44 ± 9	35 ± 8
22	$\bar{x} \pm s$	6	37 ± 14	50 ± 12	54 ± 8	50 ± 8	32 ± 7
23	$\bar{x} \pm s$	6	29 ± 9	44 ± 18	49 ± 11	44 ± 12	30 ± 4
24	$\bar{x} \pm s$	6	32 ± 9	43 ± 20	43 ± 10	43 ± 12	32 ± 8
25	$\bar{x} \pm s$	6	28 ± 13	52 ± 11	45 ± 9	45 ± 8	28 ± 5
26	$\bar{x} \pm s$	6	39 ± 10	56 ± 10	54 ± 4	49 ± 10	34 ± 7
27	$\bar{x} \pm s$	6	37 ± 9	52 ± 12	55 ± 6	48 ± 12	39 ± 8

Gruppe A = Kontrollgruppe, Gruppe B = Einfachdosisgruppe, Gruppe C = Eineinhalbfachdosisgruppe, Gruppe D = Doppeldosisgruppe, Gruppe E = Fünffachdosisgruppe

Tabelle A.12: Tägliche Trinkwasseraufnahme der Kontrollgruppe, Einfachdosisgruppe, Eineinhalbfachdosisgruppe, Doppeldosisgruppe und Fünffachdosisgruppe

Trinkwasseraufnahme [ml]							
Tag	statistische Maßzahlen	n	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C	Gruppe D	Gruppe E
-5	$\bar{x} \pm s$	12	32 ± 9	40 ± 18	45 ± 19	42 ± 14	21 ± 7
-4	$\bar{x} \pm s$	12	32 ± 7	42 ± 17	49 ± 20	43 ± 13	25 ± 8
-3	$\bar{x} \pm s$	12	43 ± 12	48 ± 15	56 ± 17	56 ± 22	23 ± 7
-2	$\bar{x} \pm s$	12	38 ± 9	45 ± 16	54 ± 18	50 ± 18	21 ± 6
-1	$\bar{x} \pm s$	12	38 ± 9	42 ± 19	51 ± 13	45 ± 19	20 ± 7
0	$\bar{x} \pm s$	12	23 ± 6	28 ± 8	36 ± 19	36 ± 14	19 ± 8
1	$\bar{x} \pm s$	12	28 ± 10	34 ± 14	41 ± 15	41 ± 15	20 ± 6
2	$\bar{x} \pm s$	12	25 ± 11	30 ± 17	30 ± 13	28 ± 10	22 ± 11
3	$\bar{x} \pm s$	12	31 ± 9	38 ± 15	39 ± 14	40 ± 11	22 ± 9
4	$\bar{x} \pm s$	12	37 ± 9	46 ± 15	48 ± 13	44 ± 9	26 ± 8
5	$\bar{x} \pm s$	12	20 ± 9	29 ± 17	27 ± 11	31 ± 7	28 ± 16
6	$\bar{x} \pm s$	12	30 ± 9	33 ± 18	41 ± 18	44 ± 11	32 ± 13
7	$\bar{x} \pm s$	12	27 ± 8	33 ± 17	36 ± 10	32 ± 7	25 ± 9
8	$\bar{x} \pm s$	12	18 ± 7	27 ± 16	29 ± 13	22 ± 4	23 ± 8
9	$\bar{x} \pm s$	12	28 ± 20	22 ± 17	28 ± 12	21 ± 7	24 ± 7
10	$\bar{x} \pm s$	12	22 ± 10	25 ± 16	29 ± 13	24 ± 8	30 ± 9
11	$\bar{x} \pm s$	12	35 ± 10	40 ± 16	46 ± 13	37 ± 8	32 ± 17
12	$\bar{x} \pm s$	12	18 ± 11	17 ± 12	24 ± 10	23 ± 5	44 ± 22
13	$\bar{x} \pm s$	12	33 ± 5	35 ± 10	38 ± 10	40 ± 6	38 ± 15
14	$\bar{x} \pm s$	12	35 ± 6	39 ± 11	40 ± 8	38 ± 7	31 ± 17
15	$\bar{x} \pm s$	12	27 ± 6	28 ± 10	35 ± 11	30 ± 7	39 ± 15
16	$\bar{x} \pm s$	12	25 ± 6	34 ± 15	34 ± 12	32 ± 7	37 ± 13
17	$\bar{x} \pm s$	12	30 ± 17	32 ± 12	37 ± 12	30 ± 10	52 ± 21
18	$\bar{x} \pm s$	12	22 ± 9	25 ± 13	28 ± 15	24 ± 9	42 ± 13
19	$\bar{x} \pm s$	12	34 ± 12	37 ± 17	44 ± 16	34 ± 9	46 ± 16
20	$\bar{x} \pm s$	12	35 ± 9	35 ± 9	44 ± 14	41 ± 9	50 ± 10
21	$\bar{x} \pm s$	6	27 ± 8	39 ± 12	40 ± 14	41 ± 5	61 ± 20
22	$\bar{x} \pm s$	6	29 ± 4	34 ± 12	38 ± 8	32 ± 5	58 ± 15
23	$\bar{x} \pm s$	6	26 ± 3	38 ± 11	37 ± 14	36 ± 6	50 ± 12
24	$\bar{x} \pm s$	6	26 ± 6	37 ± 9	33 ± 12	35 ± 12	42 ± 5
25	$\bar{x} \pm s$	6	34 ± 9	33 ± 11	43 ± 16	38 ± 7	49 ± 15
26	$\bar{x} \pm s$	6	33 ± 19	33 ± 9	29 ± 7	33 ± 12	51 ± 7
27	$\bar{x} \pm s$	6	39 ± 9	41 ± 13	44 ± 9	40 ± 8	54 ± 10

Gruppe A = Kontrollgruppe, Gruppe B = Einfachdosisgruppe, Gruppe C = Eineinhalbfachdosisgruppe, Gruppe D = Doppeldosisgruppe, Gruppe E = Fünffachdosisgruppe

Tabelle A.13: Gewichtsentwicklung der Kontrollgruppe, Einfachdosisgruppe, Eineinhalbfachdosisgruppe, Doppeldosisgruppe und Fünffachdosisgruppe im Studienverlauf

Körpermasse [g]							Signifikanz ($p \leq 0,05$) Duncan-Test zwischen den Gruppen A bis E
Tag	statistische Maßzahlen	Gruppe A (n = 12)	Gruppe B (n = 12)	Gruppe C (n = 12)	Gruppe D (n = 12)	Gruppe E (n = 12)	
-6	$\bar{x} \pm s$	485 \pm 47	509 \pm 51	512 \pm 37	514 \pm 44	493 \pm 40	n. s.
0	$\bar{x} \pm s$	488 \pm 48	508 \pm 60	517 \pm 37	509 \pm 29	484 \pm 42	n. s.
7	$\bar{x} \pm s$	491 \pm 65	511 \pm 57	513 \pm 38	502 \pm 32	474 \pm 47	n. s.
14	$\bar{x} \pm s$	478 \pm 59	499 \pm 59	496 \pm 50	534 \pm 45	459 \pm 48	D : E, A
20	$\bar{x} \pm s$	465 \pm 55	501 \pm 59	505 \pm 40	494 \pm 39	448 \pm 49	E : B, C, D
Signifikanzprüfung gepaarter t-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen		n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	-6 : 0 0 : 7 7 : 14	

Gruppe A = Kontrollgruppe, Gruppe B = Einfachdosisgruppe, Gruppe C = Eineinhalbfachdosisgruppe, Gruppe D = Doppeldosisgruppe, Gruppe E = Fünffachdosisgruppe

A : B, D = A ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von B und D

Tabelle A.14: Anzahl der Tiere mit verändertem Verhalten (Regurgitieren) in der Kontrollgruppe, Einfachdosisgruppe, Eineinhalbfachdosisgruppe, Doppeldosisgruppe und Fünffachdosisgruppe im Studienverlauf

Anzahl der Tiere mit verändertem Verhalten (Regurgitieren)					
Tag	Gruppe A (n = 12)	Gruppe B (n = 12)	Gruppe C (n = 12)	Gruppe D (n = 12)	Gruppe E (n = 12)
-6	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	5*
14	0	0	0	0	7*
20	0	0	0	0	7*

* χ^2 -Test $p < 0,001$

Gruppe A = Kontrollgruppe, Gruppe B = Einfachdosisgruppe, Gruppe C = Eineinhalbfachdosisgruppe, Gruppe D = Doppeldosisgruppe, Gruppe E = Fünffachdosisgruppe

Tabelle A.15: Anzahl der Tiere mit verändertem Kot/ Harn (Polyurie) in der Kontrollgruppe, Einfachdosisgruppe, Eineinhalbfachdosisgruppe, Doppeldosisgruppe und Fünffachdosisgruppe im Studienverlauf

Anzahl der Tiere mit verändertem Kot/ Harn (Polyurie)					
Tag	Gruppe A (n = 12)	Gruppe B (n = 12)	Gruppe C (n = 12)	Gruppe D (n = 12)	Gruppe E (n = 12)
-6	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1	0
7	0	0	0	2	6*
14	0	1	1	0	12*
20	0	3	0	0	12*

* χ^2 -Test $p < 0,001$

Gruppe A = Kontrollgruppe, Gruppe B = Einfachdosisgruppe, Gruppe C = Eineinhalbfachdosisgruppe,
Gruppe D = Doppeldosisgruppe, Gruppe E = Fünffachdosisgruppe

Tabellen A.16 – A.32: Verlauf der klinisch chemischen und hämatologischen Parameter bei der Kontrollgruppe, Einfachdosisgruppe, Eineinhalbfachdosisgruppe, Doppeldosisgruppe und Fünffachdosisgruppe und den Entnahmen am Tag -6, 10 und 20

A.16

Gesamteiweiß [g/l]					Signifikanzprüfung gepaarter t-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	31,8 \pm 4,5 31,1 28,7 - 33,8	25,8 \pm 3,0 25,5 23,5 - 27,5	25,0 \pm 2,7 25,4 22,5 - 26,3	-6 : 10, 20
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	32,7 \pm 4,1 33,2 28,8 - 34,7	27,4 \pm 2,8 26,8 25,1 - 29,8	26,7 \pm 2,2 26,5 25,0 - 29,1	-6 : 10, 20
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	31,3 \pm 3,9 31,9 27,4 - 34,8	26,8 \pm 3,6 26,5 23,3 - 30,3	25,9 \pm 3,1 25,8 23,2 - 28,9	-6 : 10, 20 10 : 20
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	32,5 \pm 3,4 31,2 30,0 - 34,6	26,6 \pm 2,4 26,9 24,9 - 27,9	26,5 \pm 1,5 26,2 25,5 - 27,6	-6 : 10, 20
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	26,9 \pm 3,2 27,7 24,4 - 29,2	26,3 \pm 3,2 25,8 23,2 - 29,7	27,7 \pm 2,7 26,1 25,1 - 29,8	10 : 20
Signifikanz ($p \leq 0,05$) Duncan- Test zwischen den Gruppen A bis E		E : A, B, C, D	n. s.	A : E	

Gruppe A = Kontrollgruppe, Gruppe B = Einfachdosisgruppe, Gruppe C = Eineinhalbfachdosisgruppe, Gruppe D = Doppeldosisgruppe, Gruppe E = Fünffachdosisgruppe

A : B, D = A ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von B und D

A. 17

Albumin [g/l]					Signifikanzprüfung gepaarter t-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	18,0 \pm 1,5 17,9 16,6 - 18,9	16,4 \pm 2,2 15,9 14,9 - 18,2	16,1 \pm 2,1 15,6 14,8 - 17,3	-6 : 10, 20
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	18,4 \pm 1,3 18,5 17,1 - 19,1	17,1 \pm 2,0 16,3 15,6 - 19,1	16,5 \pm 1,7 16,4 14,6 - 18,5	-6 : 20
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	17,9 \pm 2,1 17,7 16,4 - 19,7	16,7 \pm 2,1 17,0 15,0 - 17,6	16,1 \pm 1,7 16,7 14,5 - 17,1	-6 : 10, 20
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	18,2 \pm 1,5 18,2 16,8 - 19,2	16,7 \pm 1,7 16,3 15,6 - 18,1	16,6 \pm 0,8 16,4 16,0 - 17,1	-6 : 10, 20
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	17,3 \pm 2,0 17,2 15,8 - 18,7	17,6 \pm 2,4 18,3 15,6 - 19,7	17,9 \pm 2,3 17,9 15,5 - 19,7	n. s.
Signifikanz ($p \leq 0,05$) Duncan- Test zwischen den Gruppen A bis E		n. s.	n. s.	C : E	

Legende siehe A. 16

A.18

Globulin [g/l]					Signifikanzprüfung gepaarter t-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	13,7 \pm 4,9 12,2 9,8 - 15,9	9,4 \pm 1,5 9,0 8,4 - 10,2	8,9 \pm 1,2 8,7 8,1 - 9,8	-6 : 10, 20
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	14,2 \pm 4,3 14,1 10,3 - 16,2	10,3 \pm 2,1 10,5 8,3 - 11,5	10,0 \pm 1,8 10,4 8,3 - 10,9	-6 : 10, 20
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	13,4 \pm 3,4 12,8 10,4 - 16,1	10,1 \pm 2,6 9,3 7,8 - 12,1	9,8 \pm 2,4 9,4 8,3 - 11,6	-6 : 10, 20
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	14,2 \pm 3,2 14,1 10,8 - 17,0	10,0 \pm 1,4 9,8 9,1 - 11,1	9,7 \pm 1,5 9,7 8,3 - 10,8	-6 : 10, 20
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	9,6 \pm 2,5 9,3 7,2 - 11,8	8,7 \pm 1,6 8,6 7,2 - 10,1	9,8 \pm 2,5 9,4 7,4 - 12,3	n. s.
Signifikanz ($p \leq 0,05$) Duncan- Test zwischen den Gruppen A bis E		E : B, C, D	B : E	n. s.	

Legende siehe A. 16

A.19

Harnsäure [$\mu\text{mol/l}$]					Signifikanzprüfung gepaarter t-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	534 \pm 128 531 440 - 641	288 \pm 67 274 238 - 344	365 \pm 86 347 309 - 408	-6 : 10, 20 10 : 20
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	560 \pm 154 562 513 - 667	328 \pm 117 308 259 - 337	323 \pm 71 300 267 - 404	-6 : 10, 20
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	561 \pm 107 608 458 - 645	282 \pm 64 282 226 - 342	340 \pm 102 356 244 - 424	-6 : 10, 20
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	427 \pm 83 438 386 - 466	308 - 94 308 226 - 349	333 \pm 84 350 254 - 395	-6 : 10, 20
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	400 \pm 163 379 299 - 492	315 \pm 90 342 222 - 387	285 \pm 84 253 220 - 317	-6 : 10
Signifikanz ($p \leq 0,05$) Duncan- Test zwischen den Gruppen A bis E		A : E B : D, E C : D, E	n. s.	A : E	

Legende siehe A. 16

A.20

ASAT [U/l]					Signifikanzprüfung gepaarter t-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	106,2 \pm 20,7 114 89,1 - 119,0	111,5 \pm 25,3 103,8 89,5 - 136,9	101,0 \pm 18,9 103,8 82,8 - 115,9	10 : 20
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	97,9 \pm 23,6 93,6 82,7 - 108,6	118,6 \pm 36,7 107,7 95,5 - 122,0	100,5 \pm 27,2 99,0 87,2 - 115,5	-6 : 10
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	99,0 \pm 29,4 95,7 72,8 - 120,1	103,9 \pm 31,7 99,2 76,7 - 140,1	94,9 \pm 25,6 93,9 73,4 - 116,2	10 : 20
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	94,7 \pm 30,0 90,4 70,1 - 117,0	103,6 \pm 33,9 90,6 81,6 - 116,1	108,7 \pm 23,6 114,5 92,9 - 118,8	n. s.
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	72,5 \pm 17,3 75,0 59,4 - 83,2	460,4 \pm 586,2 208,0 121,2 - 803,4	664,8 \pm 554,7 503,2 195,8 - 1151,8	-6 : 10, 20
Signifikanz ($p \leq 0,05$) Duncan- Test zwischen den Gruppen A bis E		E : A, B, C, D	E : A, B, C, D	E : A, B, C	

Legende siehe A. 16

A.21

GGT [U/l]					Signifikanzprüfung Wilcoxon-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0,0 \pm 0,0 0,0 0,0 - 0,0	0,0 \pm 0,0 0,0 0,0 - 0,0	0,0 \pm 0,1 0,0 0,0 - 0,0	n. s.
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0,4 \pm 1,0 0,0 0,0 - 0,0	0,3 \pm 0,8 0,0 0,0 - 0,2	0,0 \pm 0,1 0,0 0,0 - 0,0	n. s.
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0,0 \pm 0,0 0,0 0,0 - 0,0	0,1 \pm 0,3 0,0 0,0 - 0,1	0,0 \pm 0,0 0,0 0,0 - 0,0	n. s.
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0,1 \pm 0,2 0,0 0,0 - 0,0	0,3 \pm 0,4 0,0 0,0 - 0,5	0,1 \pm 0,3 0,0 0,0 - 0,0	n. s.
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0,6 \pm 1,4 0,0 0,0 - 0,0	24,9 \pm 28,1 14,8 0,6 - 47,1	111,9 \pm 112,4 56,7 13,0 - 220,4	-6 : 10, 20 10 : 20
Signifikanz ($p \leq 0,05$) U-Test zwischen den Gruppen A bis E		D : E	A : D, E E : B, C, D	E : A, B, C	

Legende siehe A. 16

A.22

LDH [U/l]					Signifikanzprüfung Wilcoxon-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	246 \pm 264 172 111 - 270	270 \pm 130 307 154 - 337	198 \pm 187 124 102 - 264	n. s.
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	149 \pm 71 127 110 - 172	107 \pm 60 92 62 - 131	162 \pm 117 123 94 - 200	n. s.
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	177 \pm 102 141 105 - 205	145 \pm 71 135 96 - 166	218 \pm 176 183 75 - 255	n. s.
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	172 \pm 93 189 90 - 198	163 \pm 150 120 88 - 145	115 \pm 60 89 65 - 171	n. s.
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	86 \pm 57 71 48 - 93	85 \pm 59 72 41 - 100	222 \pm 121 184 134 - 309	-6 : 20 10 : 20
Signifikanz ($p \leq 0,05$) U-Test zwischen den Gruppen A bis E		E : A, B, C, D	A : B, C, D E : A, C, D	D : E	

Legende siehe A. 16

A.23

Creatinkinase [U/l]					Signifikanzprüfung gepaarter t-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	311,3 \pm 175,8 282,6 206,7 - 360,2	337,2 \pm 95,1 341,4 270,8 - 408,7	256,2 \pm 51,5 254,6 213,1 - 288,8	10 : 20
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	234,4 \pm 90,9 211,7 183,7 - 310,9	220,0 \pm 73,2 210,8 185,4 - 242,3	253,5 \pm 68,9 235,8 208,9 - 321,6	n. s.
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	259,7 \pm 65,8 241,3 220,7 - 317,7	200,3 \pm 48,5 188,9 169,2 - 210,9	236,6 \pm 59,1 220,2 197,2 - 268,2	-6 : 10 10 : 20
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	221,0 \pm 106,6 238,8 145,2 - 303,4	221,0 \pm 126,3 183,9 148,7 - 261,1	205,9 \pm 56,9 218,2 180,4 - 239,3	n. s.
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	244,0 \pm 100,3 244,5 156,7 - 284,0	255,1 \pm 46,4 253,0 209,8 - 294,0	300,2 \pm 78,2 298,3 238,7 - 343,3	n. s.
Signifikanz ($p \leq 0,05$) Duncan- Test zwischen den Gruppen A bis E		n. s.	A : B; C; D E : A, C, D	E : C, D	

Legende siehe A. 16

A.24

Gallensäure [$\mu\text{mol/l}$]					Signifikanzprüfung gepaarter t-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	38 \pm 16 38 27 - 49	39 \pm 14 36 29 - 42	74 \pm 60 58 28 - 101	-6 : 10, 20

Legende siehe A. 16

A.25

Cholinesterase [U/l]					Signifikanzprüfung gepaarter t-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	4232 \pm 1065 4200 3526 - 4468	4776 \pm 947 4856 4098 - 5252	4941 \pm 1074 4702 3993 - 5964	-6 : 10

Legende siehe A. 16

A.26

Hämatokrit [SI-Einheiten]					Signifikanzprüfung gepaarter t-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0,51 \pm 0,04 0,52 0,47 - 0,54	0,51 \pm 0,06 0,52 0,49 - 0,55	0,48 \pm 0,05 0,50 0,44 - 0,52	n. s.
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0,53 \pm 0,05 0,54 0,48 - 0,57	0,52 \pm 0,06 0,53 0,49 - 0,56	0,53 \pm 0,05 0,54 0,48 - 0,57	n. s.
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0,54 \pm 0,02 0,53 0,53 - 0,55	0,55 \pm 0,02 0,54 0,53 - 0,57	0,51 \pm 0,04 0,53 0,49 - 0,54	10 : 20
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0,52 \pm 0,03 0,53 0,49 - 0,55	0,54 \pm 0,03 0,54 0,53 - 0,56	0,52 \pm 0,03 0,52 0,49 - 0,55	n. s.
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0,50 \pm 0,05 0,52 0,48 - 0,54	0,49 \pm 0,02 0,49 0,48 - 0,51	0,46 \pm 0,02 0,46 0,44 - 0,47	-6 : 20 10 : 20
Signifikanz ($p \leq 0,05$) Duncan- Test zwischen den Gruppen A bis E		C : E	E : C, D	A : B E : B, C, D	

Legende siehe A. 16

A.27

Leukozyten [$\times 10^9/l$]					Signifikanzprüfung gepaarter t-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	13 \pm 4 12,3 11 - 16	14 \pm 5 13 11 - 17	16 \pm 5 14 13 - 20	n. s.
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	13 \pm 2 13 12 - 15	15 \pm 4 13 13 - 19	14 \pm 3 14 11 - 17	n. s.
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	14 \pm 2 14 12 - 16	18 \pm 4 18 15 - 21	13 \pm 2 13 11 - 16	-6 : 10 10 : 20
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	13 \pm 2 13 12 - 15	13 \pm 3 13 10 - 14	13 \pm 4 13 10 - 15	n. s.
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	14 \pm 2 14 13 - 15	20 \pm 6 20 15 - 24	26 \pm 21 15 14 - 42	-6 : 10, 20
Signifikanz ($p \leq 0,05$) Duncan- Test zwischen den Gruppen A bis E		n. s.	E : A, B, D	n. s.	

Legende siehe A. 16

A.28

Lymphozyten [%]					Signifikanzprüfung gepaarter t-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	67 ± 12 69 63 - 74	68 ± 11 72 62 - 65	72 ± 7 70 67 - 80	n. s.
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	68 ± 7 67 63 - 73	74 ± 5 75 71 - 79	76 ± 5 78 72 - 80	-6 : 10, 20
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	64 ± 8 64 56 - 73	73 ± 6 74 67 - 79	74 ± 5 75 70 - 78	-6 : 10, 20
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	64 ± 10 65 58 - 70	70 ± 7 72 66 - 74	76 ± 4 77 72 - 80	-6 : 10, 20 10 : 20
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	71 ± 7 71 65 - 78	57 ± 14 59 52 - 62	41 ± 20 44 24 - 59	-6 : 10, 20 10 : 20
Signifikanz ($p \leq 0,05$) Duncan- Test zwischen den Gruppen A bis E		n. s.	E : A, B, C, D	E : A, B, C, D	

Legende siehe A. 16

A.29

Heterophile [%]					Signifikanzprüfung gepaarter t-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	28 ± 12 25 22 - 31	27 ± 9 27 19 - 37	23 ± 6 25 18 - 29	n. s.
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	28 ± 7 28 22 - 32	23 ± 6 21 19 - 27	20 ± 5 18 17 - 23	-6 : 10, 20
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	32 ± 10 33 23 - 40	23 ± 7 25 17 - 28	20 ± 4 20 16 - 23	-6 : 10, 20
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	32 ± 10 32 26 - 39	26 ± 6 25 21 - 31	19 ± 3 18 16 - 22	-6 : 20
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	26 ± 7 26 19 - 32	40 ± 14 39 34 - 45	57 ± 21 56 39 - 77	-6 : 10, 20 10 : 20
Signifikanz ($p \leq 0,05$) Duncan- Test zwischen den Gruppen A bis E		n. s.	E : A, B, C, D	E : A, B, C, D	

Legende siehe A. 16

A.30

Basophile [%]					Signifikanzprüfung Wilcoxon-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0 ± 0 0 0 - 0	1 ± 2 0 0 - 0	0 ± 0 0 0 - 0	n. s.
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0 ± 0 0 0 - 0	0 ± 0 0 0 - 0	0 ± 0 0 0 - 0	n. s.
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0 ± 1 0 0 - 0	0 ± 0 0 0 - 0	0 ± 1 0 0 - 1	n. s.
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0 ± 0 0 0 - 1	0 ± 0 0 0 - 0	0 ± 1 0 0 - 1	n. s.
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0 ± 0 0 0 - 1	0 ± 0 0 0 - 0	0 ± 0 0 0 - 0	n. s.
Signifikanz ($p \leq 0,05$) U-Test zwischen den Gruppen A bis E		n. s.	n. s.	B : D	

Legende siehe A. 16

A.31

Eosinophile [%]					Signifikanzprüfung Wilcoxon-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	2 ± 3 1 0 - 2	0 ± 1 0 0 - 1	2 ± 3 1 0 - 3	n. s.
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	1 ± 1 0 0 - 2	0 ± 0 0 0 - 1	0 ± 1 0 0 - 1	n. s.
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0 ± 1 0 0 - 1	0 ± 1 0 0 - 0	0 ± 0 0 0 - 0	n. s.
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	1 ± 1 1 0 - 1	1 ± 2 0 0 - 1	0 ± 0 0 0 - 1	n. s.
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	0 ± 0 0 0 - 0	0 ± 0 0 0 - 1	0 ± 0 0 0 - 1	n. s.
Signifikanz ($p \leq 0,05$) U-Test zwischen den Gruppen A bis E		A : E	n. s.	n. s.	

Legende siehe A. 16

A.32

Monozyten [%]					Signifikanzprüfung Wilcoxon-Test ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen
Gruppe	statistische Maßzahlen	Entnahme am Tag -6	Entnahme am Tag 10	Entnahme am Tag 20	
A (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	4 ± 1 4 3 - 4	3 ± 2 4 1 - 6	3 ± 1 3 2 - 4	n. s.
B (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	4 ± 2 3 2 - 5	3 ± 2 3 2 - 5	4 ± 2 4 2 - 5	n. s.
C (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	4 ± 3 4 2 - 5	5 ± 2 5 2 - 7	4 ± 1 4 3 - 5	n. s.
D (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	3 ± 2 3 2 - 4	3 ± 2 3 1 - 4	3 ± 1 4 3 - 4	n. s.
E (n = 12)	$\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	3 ± 1 4 2 - 4	3 ± 1 3 2 - 4	1 ± 1 1 0 - 3	-6 : 20 10 : 20
Signifikanz ($p \leq 0,05$) U-Test zwischen den Gruppen A bis E		n. s.	C : E	E : A, B, C, D	

Legende siehe A. 16

Tabelle A.33: Anzahl der Tiere mit Leberveränderungen in der Kontrollgruppe, Einfachdosisgruppe, Eineinhalbfachdosisgruppe, Doppeldosisgruppe und Fünffachdosisgruppe an den Sektionstagen 21 und 28

Anzahl der Tiere mit Leberveränderungen					
	Gruppe A (n = 9)	Gruppe B (n = 9)	Gruppe C (n = 9)	Gruppe D (n = 12)	Gruppe E (n = 12)
pathohistologisch ohne besonderen Befund	0	0	0	0	2
gering- bis mittelgradige extramedulläre Hämatopoese	0	0	0	0	2
Akute Hepatitis	0	0	0	0	1
Fettige Leberzelldegeneration	0	0	0	0	1
insgesamt	2	0	0	0	6*

* χ^2 -Test $p < 0,001$

Gruppe A = Kontrollgruppe, Gruppe B = Einfachdosisgruppe, Gruppe C = Eineinhalbfachdosisgruppe, Gruppe D = Doppeldosisgruppe, Gruppe E = Fünffachdosisgruppe

Tabelle A.34: Organgewichte der Kontrollgruppe, Einfachdosisgruppe, Eineinhalbfachdosisgruppe, Doppeldosisgruppe und Fünffachdosisgruppe an den Sektionstagen 21 und 28

Organgewichte [g]							Signifikanz ($p \leq 0,05$) Duncan-Test zwischen den Gruppen A bis E
	statistische Maßzahlen	Gruppe A (n = 9)	Gruppe B (n = 9)	Gruppe C (n = 9)	Gruppe D (n = 9)	Gruppe E (n = 12)	
Leber	$\bar{x} \pm s$	$9,1 \pm 2,0$	$11,1 \pm 2,4$	$11,5 \pm 3,1$	$10,3 \pm 1,5$	$7,8 \pm 1,7$	E: A, B, C, D
Milz	$\bar{x} \pm s$	$0,3 \pm 0,2$	$0,2 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$	$0,1 \pm 0,0$	E: A, B, C, D
Herz	$\bar{x} \pm s$	$7,6 \pm 1,0$	$8,5 \pm 1,3$	$9,0 \pm 1,4$	$8,4 \pm 0,8$	$6,5 \pm 1,0$	E: A, B, C, D
Niere	$\bar{x} \pm s$	$3,0 \pm 0,5$	$3,6 \pm 0,6$	$3,6 \pm 0,5$	$3,6 \pm 0,8$	$2,6 \pm 0,4$	E: A, B, C, D

Gruppe A = Kontrollgruppe, Gruppe B = Einfachdosisgruppe, Gruppe C = Eineinhalbfachdosisgruppe, Gruppe D = Doppeldosisgruppe, Gruppe E = Fünffachdosisgruppe

Danksagung

Die Experimente der vorliegenden Arbeit wurden im Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie sowie der Klinik für Vögel und Reptilien der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. F.R. Ungemach aus dem Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie danke ich für die interessante Themenstellung, die vielen anregenden Diskussionen und der steten Förderung dieser Arbeit. Er war mir in wissenschaftlicher und menschlicher Hinsicht ein Vorbild.

Frau Prof. Dr. M.-E. Krautwald-Junghanns aus der Klinik für Vögel und Reptilien danke ich ebenfalls für die interessante Themenstellung, für die allzeit gewährte Beratung, für das konstruktive Vorandrängen dieser Arbeit sowie der Einarbeitung in das Fachgebiet der Vogelmedizin.

Frau Dr. U. Knoll aus dem Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie möchte ich herzlich für die intensive wissenschaftliche Betreuung, für ihre fachkundige Hilfe bei der HPLC-Analyse und die kritische Durchsicht des Manuskripts - über ihren Eintritt in den Ruhestand hinaus - danken.

Herrn A. Richter aus der Ambulatorischen und Geburtshilflichen Tierklinik möchte ich danken. Mit viel Verständnis und zeitlichem Aufwand widmete er sich meinen statistischen Fragestellungen.

Den Mitarbeitern der Klinik für Vögel und Reptilien sowie des Instituts für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie gilt mein Dank für die freundschaftliche Aufnahme, die gute Zusammenarbeit und die jederzeit gewährte Unterstützung bei den Experimenten. Insbesondere Tina Trümper, Stefan Pestner und Roland Pichel für die Hilfe bei der Haltung und Pflege der Brieftauben, Volker Schmidt, Kerstin Cramer und Frank Enders für das freundschaftliche zur Verfügung stellen ihrer Unterlagen, Kathrin Pees für ihre damals studentische Mithilfe bei den Versuchen. Des Weiteren gilt mein Dank Martina Wieczorek für ihre fachkundige Hilfe bei der HPLC-Analyse.

Meinen Eltern danke ich für ihre Liebe, ihr immer währendes für mich Dasein sowie ihre seelisch-moralische und finanzielle Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Großen Dank an Antje für ihre ganz besondere Hilfe. Dass sie nicht nur mit OpenOffice, sondern auch als Freundin tagelang, abendelang und nächtelang dann doch an meiner Seite war und da bleibt.

Ole ein herzliches Dankeschön für seine spontane Unterstützung bei der Überarbeitung der Grafiken.

Barbro möchte ich für ihre positiven Affirmationen und die gemeinsam erstellte Handbrot-CD danken.

Ein Danke an Ben, der mich bestärkt hat, zum Zusammenschreiben der Arbeit heim zu fahren. Und an den Nachbarn Micha, der durch seine Verabredung am Handbrotstand, die er zwar nicht eingehalten hat, dennoch ein Datum festsetzte, mit der zusammengeschriebenen Arbeit wieder zu kommen.

Ich danke meinen Freunden Bettina, Markus, Gabi, Kathrin, Roman und Katha für ihren Glauben an mich als Doktorin.

Meiner Mitbewohnerin Patricia danke ich für den kleinen „jetzt-sammelste-nochmal-alle-Energie“ - Motivationszettel und ihrer Mithilfe bei der Durchsicht des Textes.

Marlo, Iggy und Mia waren an den Orten des Zusammenschreibens dabei.